(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-516321
(P2025-516321A)
(43)公表日　令和7年5月27日(2025.5.27)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ｃ１２Ｎ	*15/113 (2010.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/113	Ｚ	４Ｂ０６５
Ａ６１Ｋ	*48/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	48/00	ＺＮＡ	４Ｃ０８４
Ａ６１Ｋ	*31/713 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/713		４Ｃ０８６
Ａ６１Ｐ	*25/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/00		
Ａ６１Ｐ	*25/28 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/28		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全174頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-564983(P2024-564983)
(86)(22)出願日　令和5年5月3日(2023.5.3)
(85)翻訳文提出日　令和6年12月24日(2024.12.24)
(86)国際出願番号　PCT/US2023/066573
(87)国際公開番号　WO2023/215805
(87)国際公開日　令和5年11月9日(2023.11.9)
(31)優先権主張番号　63/338,645
(32)優先日　令和4年5月5日(2022.5.5)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/352,573
(32)優先日　令和4年6月15日(2022.6.15)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ
最終頁に続く

(71)出願人　505369158
アルナイラム ファーマシューティカルズ， インコーポレイテッド
ＡＬＮＹＬＡＭ ＰＨＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＡＬＳ， ＩＮＣ．
アメリカ合衆国０２１４２マサチューセッツ州ケンブリッジ、ウエスト・ケンドール・ストリート６７５、ヘンリ・エイ・ターミア・スクエア
(74)代理人　100145403
弁理士　山尾 憲人
(74)代理人　100106518
弁理士　松谷 道子
(74)代理人　100138911
弁理士　櫻井 陽子
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　アクチン結合ＬＩＭタンパク質３（ＡＢＬＩＭ３）ｉＲＮＡ剤組成物およびその使用方法

(57)【要約】
本開示は、アクチン結合ＬＩＭタンパク質３（ＡＢＬＩＭ３）遺伝子を標的化する二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡｉ）剤および組成物、ならびにＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現を阻害する方法、およびそのようなｄｓＲＮＡｉ剤および組成物を使用して、ＡＢＬＩＭ３関連疾患または障害、例えば、ＰＴＳＤまたは加齢性記憶喪失を有する対象を処置する方法に関する。

10

20

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ＡＢＬＩＭ３の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡ）剤であって、ｄｓＲＮＡ剤は、二本鎖領域を形成するセンス鎖およびアンチセンス鎖を含み、
センス鎖は、配列番号１のヌクレオチド配列と３個以下のヌクレオチドが異なる少なくとも１５個の連続するヌクレオチドを含み、アンチセンス鎖は、配列番号２のヌクレオチド配列と３個以下のヌクレオチドが異なる少なくとも１５個の連続するヌクレオチドを含む、ｄｓＲＮＡ剤。
【請求項２】
ＡＢＬＩＭ３の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡ）剤であって、ｄｓＲＮＡ剤は、二本鎖領域を形成するセンス鎖およびアンチセンス鎖を含み、
アンチセンス鎖は、ＡＢＬＩＭ３をコードするｍＲＮＡに対して相補性の領域を含み、相補性の領域は、配列番号２のヌクレオチド配列と３個以下のヌクレオチドが異なる少なくとも１５個の連続するヌクレオチドを含む、ｄｓＲＮＡ剤。
【請求項３】
ＡＢＬＩＭ３の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡ）剤であって、ｄｓＲＮＡ剤は、二本鎖領域を形成するセンス鎖およびアンチセンス鎖を含み、
アンチセンス鎖は、Ａｂｌｉｍ３をコードするｍＲＮＡに対して相補性の領域を含み、相補性の領域は、表３または４におけるアンチセンスヌクレオチド配列のいずれか１つと３個以下のヌクレオチドが異なる少なくとも１５個の連続するヌクレオチドを含む、ｄｓＲＮＡ剤。
【請求項４】
センス鎖が、配列番号１のヌクレオチド８２～１０２、１３４～１５４、２３２～２５２、２７６～２９６、２９３～３１３、３２６～３４６、３５１～３７１、３６６～３８６、３８１～４０１、４１４～４３４、４８２～５０２、５００～５２０、５４２～５６２、５５８～５７８、５８２～６０２、６２２～６４２、６７４～６９４、６９２～７１２、７１３～７３３、７２８～７４８、７４３～７６３、７７９～７９９、８８７～９０７、９４２～９６２、９８３～１００３、１００１～１０２１、１０８２～１１０２、１１０２～１１２２、１１１７～１１３７、１１７７～１１９７、１１９２～１２１２、１２４２～１２６２、１２６９～１２８９、１３１３～１３３３、１３４４～１３６４、１３５９～１３７９、１３７４～１３９４、１４０８～１４２８、１４３７～１４５７、１５５０～１５７０、１５９４～１６１４、１６２４～１６４４、１６４５～１６６５、１６７４～１６９４、１７１５～１７３５、１７４６～１７６６、１７６７～１７８７、１８１２～１８３２、１８５９～１８７９、１８８４～１９０４、１９１２～１９３２、１９３５～１９５５、１９７１～１９９１、２０３９～２０５９、２０９６～２１１６、２１２７～２１４７、２１６９～２１８９、２１８４～２２０４、２２１８～２２３８、２２４５～２２６５、２２７３～２２９３、２３２５～２３４５、２３４３～２３６３、２３８５～２４０５、２４２２～２４４２、２４５９～２４７９、２４８３～２５０３、２５２０～２５４０、２５３５～２５５５、２５６１～２５８１、２５８５～２６０５、２６６７～２６８７、２７０３～２７２３、２７２９～２７４９、２７６４～２７８４、２７８８～２８０８、２８３０～２８５０、２８６１～２８８１、２８８５～２９０５、２９３７～２９５７、２９５８～２９７８、２９７４～２９９４、３０１１～３０３１、３０４４～３０６４、３０６１～３０８１、３０７９～３０９９、３１１０～３１３０、３１４６～３１６６、３２０３～３２２３、３２２０～３２４０、３２７９～３２９９、３３０３～３３２３、３３２１～３３４１、３３３８～３３５８、３３８８～３４０８、３４０７～３４２７、３４２２～３４４２、３４３７～３４５７、３４５２～３４７２、３５３２～３５５２、３５４８～３５６８、３５７９～３５９９、３５９４～３６１４、３６２６～３６４６、３６４４～３６６４、３６８２～３７０２、３７０６～３７２６、３７２１～３７４１、３７４６～３７６６、３７６３～３７８３、３７９６～３８１６、３８１４～３８３４、３８４９～３８６９、３８６６～３８８６、３８９７～３９１７、３

９１９～３９３９、３９８６～４００６、４０１８～４０３８、４０３７～４０５７、４０５８～４０７８、４０８４～４１０４、４０９９～４１１９、４１３１～４１５１、４１５９～４１７９、４２２５～４２４５、４２４１～４２６１、４２７６～４２９６、４２９１～４３１１、４３０６～４３２６、４３３６～４３５６、４３５４～４３７４、４３６９～４３８９、４３８７～４４０７、４４０４～４４２４、または４４２１～４４４１のヌクレオチド配列のいずれか１つと３個以下のヌクレオチドが異なる少なくとも１５個の連続するヌクレオチドを含み、アンチセンス鎖が、配列番号２の対応するヌクレオチド配列からの少なくとも１５個の連続するヌクレオチドを含む、請求項１～３のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項５】

アンチセンス鎖が、ＡＤ－１８０７４５５、ＡＤ－１８０７４８１、ＡＤ－１８０７５３９、ＡＤ－１８０７５６１、ＡＤ－１８０７５７８、ＡＤ－１８０７５９１、ＡＤ－１８０７６１６、ＡＤ－１８０７６３１、ＡＤ－１８０７６４６、ＡＤ－１８０７６５９、ＡＤ－１８０７７０７、ＡＤ－１８０７７２５、ＡＤ－１８０７７６４、ＡＤ－１８０７７８０、ＡＤ－１８０７８０４、ＡＤ－１８０７８４４、ＡＤ－１８０７８７０、ＡＤ－１８０７８８８、ＡＤ－１８０７８８９、ＡＤ－１８０７９０４、ＡＤ－１８０７９１９、ＡＤ－１８０７９５５、ＡＤ－１８０８０６３、ＡＤ－１８０８０９８、ＡＤ－１８０８１３９、ＡＤ－１８０８１５７、ＡＤ－１８０８２３８、ＡＤ－１８０８２５８、ＡＤ－１８０８２７３、ＡＤ－１８０８３１２、ＡＤ－１８０８３２７、ＡＤ－１８０８３５６、ＡＤ－１８０８３８３、ＡＤ－１８０８４０７、ＡＤ－１８０８４１８、ＡＤ－１８０８４３３、ＡＤ－１８０８４４８、ＡＤ－１８０８４８２、ＡＤ－１８０８５１１、ＡＤ－１８０８５６１、ＡＤ－１８０８５９８、ＡＤ－１８０８６２８、ＡＤ－１８０８６４９、ＡＤ－１８０８６７８、ＡＤ－１８０８６９８、ＡＤ－１８０８７２７、ＡＤ－１８０８７４８、ＡＤ－１８０８７７３、ＡＤ－１８０８７８９、ＡＤ－１８０８８１４、ＡＤ－１８０８８４２、ＡＤ－１８０８８６５、ＡＤ－１８０８９０１、ＡＤ－１８０８９４１、ＡＤ－１８０８９７８、ＡＤ－１８０９００９、ＡＤ－１８０９０５１、ＡＤ－１８０９０６６、ＡＤ－１８０９０８０、ＡＤ－１８０９１０７、ＡＤ－１８０９１３５、ＡＤ－１８０９１８７、ＡＤ－１８０９２０５、ＡＤ－１８０９２４６、ＡＤ－１８０９２８３、ＡＤ－１８０９２９３、ＡＤ－１８０９３１７、ＡＤ－１８０９３５４、ＡＤ－１８０９３６９、ＡＤ－１８０９３９５、ＡＤ－１８０９４１４、ＡＤ－１８０９４５６、ＡＤ－１８０９４７２、ＡＤ－１８０９４９８、ＡＤ－１８０９５１１、ＡＤ－１８０９５３５、ＡＤ－１８０９５５０、ＡＤ－１８０９５６１、ＡＤ－１８０９５８５、ＡＤ－１８０９５９６、ＡＤ－１８０９６１７、ＡＤ－１８０９６３３、ＡＤ－１８０９６７０、ＡＤ－１８０９７０２、ＡＤ－１８０９７１９、ＡＤ－１８０９７３７、ＡＤ－１８０９７５７、ＡＤ－１８０９７７３、ＡＤ－１８０９８２２、ＡＤ－１８０９８３９、ＡＤ－１８０９８９５、ＡＤ－１８０９９１９、ＡＤ－１８０９９３７、ＡＤ－１８０９９５４、ＡＤ－１８１０００４、ＡＤ－１８１００２３、ＡＤ－１８１００３８、ＡＤ－１８１００５３、ＡＤ－１８１００６８、ＡＤ－１８１０１２７、ＡＤ－１８１０１４３、ＡＤ－１８１０１７４、ＡＤ－１８１０１８９、ＡＤ－１８１０２２１、ＡＤ－１８１０２３９、ＡＤ－１８１０２５５、ＡＤ－１８１０２７７、ＡＤ－１８１０２９２、ＡＤ－１８１０２９６、ＡＤ－１８１０３１３、ＡＤ－１８１０３４５、ＡＤ－１８１０３６３、ＡＤ－１８１０３９８、ＡＤ－１８１０４１５、ＡＤ－１８１０４４６、ＡＤ－１８１０４６８、ＡＤ－１８１０４９４、ＡＤ－１８１０５２６、ＡＤ－１８１０５４５、ＡＤ－１８１０５６６、ＡＤ－１８１０５９１、ＡＤ－１８１０６０６、ＡＤ－１８１０６３８、ＡＤ－１８１０６６６、ＡＤ－１８１０６７６、ＡＤ－１８１０６９２、ＡＤ－１８１０７２７、ＡＤ－１８１０７４２、ＡＤ－１８１０７５７、ＡＤ－１８１０７６７、ＡＤ－１８１０７８５、ＡＤ－１８１０８００、ＡＤ－１８１０８１８、ＡＤ－１８１０８２２、およびＡＤ－１８１０８３９からなる群から選択される二重鎖のアンチセンス鎖ヌクレオチド配列のいずれか１つと３個以下のヌクレオチドが異なる少なくとも１５個の連続するヌクレオチドを含む、請求項１～４のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項６】
センスおよびアンチセンス鎖のヌクレオチド配列が、表３または４におけるセンスおよびアンチセンス鎖ヌクレオチド配列のいずれか１つを含む、請求項１または２に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項７】
センス鎖、アンチセンス鎖、またはセンス鎖とアンチセンス鎖の両方が、１つまたは複数の親油性部分にコンジュゲートしている、請求項１～６のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項８】
親油性部分が、ｄｓＲＮＡ剤の二本鎖領域中の１つまたは複数の内部位置にコンジュゲートしている、請求項７に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項９】
親油性部分が、リンカーまたは担体を介してコンジュゲートしている、請求項７または８に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項１０】
ｌｏｇK_{ow}によって測定された親油性部分の親油性が、０を超える、請求項７～９のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項１１】
二本鎖ＲＮＡｉ剤の血漿タンパク質結合アッセイにおいて未結合画分によって測定される二本鎖ＲＮＡｉ剤の疎水性が、０．２を超える、請求項１～１０のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項１２】
血漿タンパク質結合アッセイが、ヒト血清アルブミンタンパク質を使用する電気泳動移動度シフトアッセイである、請求項１１に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項１３】
ｄｓＲＮＡ剤が、少なくとも１つの修飾されたヌクレオチドを含む、請求項１～１２のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項１４】
センス鎖ヌクレオチドの５個以下およびアンチセンス鎖のヌクレオチドの５個以下が、修飾されていないヌクレオチドである、請求項１３に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項１５】
センス鎖のヌクレオチドの全ておよびアンチセンス鎖のヌクレオチドの全てが、修飾されたヌクレオチドである、請求項１３に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項１６】
修飾されたヌクレオチドの少なくとも１つが、デオキシヌクレオチド、３’末端デオキシチミジン（ｄＴ）ヌクレオチド、２’－Ｏ－メチル修飾されたヌクレオチド、２’－フルオロ修飾されたヌクレオチド、２’－デオキシ修飾されたヌクレオチド、ロックドヌクレオチド、非ロックドヌクレオチド、立体配座的に制限されたヌクレオチド、拘束エチルヌクレオチド、脱塩基ヌクレオチド、２’－アミノ変性ヌクレオチド、２’－Ｏ－アリル修飾されたヌクレオチド、２’－Ｃ－アルキル修飾されたヌクレオチド、２’－ヒドロキシル修飾されたヌクレオチド、２’－メトキシエチル修飾されたヌクレオチド、２’－Ｏ－アルキル修飾されたヌクレオチド、モルホリノヌクレオチド、ホスホルアミデート、非天然塩基を含むヌクレオチド、テトラヒドロピラン修飾されたヌクレオチド、１，５－アンヒドロヘキシトール修飾されたヌクレオチド、シクロヘキセニル修飾されたヌクレオチド、５’－ホスホロチオエート基を含むヌクレオチド、５’－メチルホスホネート基を含むヌクレオチド、５’ホスフェートまたは５’ホスフェートミミックを含むヌクレオチド、ビニルホスホネートを含むヌクレオチド、グリコール核酸（ＧＮＡ）、Ｓ－グリコール核酸（Ｓ－ＧＮＡ）、２－ヒドロキシメチル－テトラヒドロフラン－５－ホスフェートを含むヌクレオチド、２’－デオキシチミジン－３’ホスフェートを含むヌクレオチド、２’－デオキシグアノシン－３’－ホスフェートを含むヌクレオチド、２’ホスフェートを含むヌクレオチ

ド、ならびにコレステリル誘導体およびドデカン酸ビスデシルアミド基に連結された末端ヌクレオチド；ならびにそれらの組合せからなる群から選択される、請求項１３～１５のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項１７】
修飾ヌクレオチドが、２’－デオキシ－２’－フルオロ修飾されたヌクレオチド、２’－デオキシ修飾されたヌクレオチド、３’末端デオキシチミジンヌクレオチド（ｄＴ）、ロックドヌクレオチド、脱塩基ヌクレオチド、２’－アミノ変性ヌクレオチド、２’－アルキル修飾されたヌクレオチド、モルホリノヌクレオチド、ホスホルアミデート、および非天然塩基を含むヌクレオチドからなる群から選択される、請求項１６に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項１８】
修飾されたヌクレオチドが、３’末端デオキシチミジンヌクレオチド（ｄＴ）の短い配列を含む、請求項１６に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項１９】
ヌクレオチドへの修飾が、２’－Ｏ－メチル、ＧＮＡ、および２’－フルオロ修飾である、請求項１６に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項２０】
少なくとも１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結をさらに含む、請求項１～１９のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項２１】
６～８個のホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、請求項２０に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項２２】
各鎖が、３０ヌクレオチド以下の長さである、請求項１～２１のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項２３】
少なくとも１つの鎖が、少なくとも１ヌクレオチドの３’オーバーハングを含む、請求項１～２２のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項２４】
少なくとも１つの鎖が、少なくとも２ヌクレオチドの３’オーバーハングを含む、請求項１～２３のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項２５】
二本鎖領域が、１５～３０ヌクレオチド対の長さである、請求項１～２４のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項２６】
二本鎖領域が、１７～２３ヌクレオチド対の長さである、請求項２５に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項２７】
二本鎖領域が、１７～２５ヌクレオチド対の長さである、請求項２５に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項２８】
二本鎖領域が、２３～２７ヌクレオチド対の長さである、請求項２５に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項２９】
二本鎖領域が、１９～２１ヌクレオチド対の長さである、請求項２５に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項３０】
二本鎖領域が、２１～２３ヌクレオチド対の長さである、請求項２５に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項３１】

各鎖が、１９～３０ヌクレオチドを有する、請求項１～３０のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項３２】
各鎖が、１９～２３ヌクレオチドを有する、請求項１～３０のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項３３】
各鎖が、２１～２３ヌクレオチドを有する、請求項１～３０のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項３４】
１つまたは複数の親油性部分が、少なくとも１つの鎖における１つまたは複数の内部位置にコンジュゲートしている、請求項８～３３のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項３５】
１つまたは複数の親油性部分が、リンカーまたは担体を介して少なくとも１つの鎖における１つまたは複数の内部位置にコンジュゲートされる、請求項３４に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項３６】
内部位置が、少なくとも１つの鎖の各端から末端の２つの位置を除く全ての位置を含む、請求項３５に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項３７】
内部位置が、少なくとも１つの鎖の各端から末端の３つの位置を除く全ての位置を含む、請求項３５に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項３８】
内部位置が、センス鎖の切断部位領域を除く、請求項３５～３７のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項３９】
内部位置が、センス鎖の５’端から数えて位置９～１２を除く全ての位置を含む、請求項３８に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項４０】
内部位置が、センス鎖の３’端から数えて位置１１～１３を除く全ての位置を含む、請求項３８に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項４１】
内部位置が、アンチセンス鎖の切断部位領域を除く、請求項３５～３７のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項４２】
内部位置が、アンチセンス鎖の５’端から数えて位置１２～１４を除く全ての位置を含む、請求項４１に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項４３】
内部位置が、３’端から数えて位置１１～１３および５’端から数えて位置１２～１４を除く全ての位置を含む、請求項３５～３７のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項４４】
１つまたは複数の親油性部分が、各鎖の５’末端から数えて、センス鎖における４～８位および１３～１８位、ならびにアンチセンス鎖における６～１０位および１５～１８位からなる群から選択される内部位置の１つまたは複数にコンジュゲートしている、請求項８～４３のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項４５】
１つまたは複数の親油性部分が、各鎖の５’末端から数えて、センス鎖における５、６、７、１５、および１７位、ならびにアンチセンス鎖における１５および１７位からなる群から選択される内部位置の１つまたは複数にコンジュゲートしている、請求項４４に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項４６】

二本鎖領域中の内部位置が、センス鎖の切断部位領域を排除している、請求項８に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項４７】
センス鎖が、２１ヌクレオチド長であり、アンチセンス鎖が、２３ヌクレオチド長であり、親油性部分が、センス鎖の位置２１、位置２０、位置１５、位置１、位置７、位置６、もしくは位置２またはアンチセンス鎖の位置１６にコンジュゲートされる、請求項７～４６のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項４８】
親油性部分が、センス鎖の２１位、２０位、１５位、１位、または７位にコンジュゲートしている、請求項４７に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項４９】
親油性部分が、センス鎖の２１位、２０位、または１５位にコンジュゲートしている、請求項４７に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項５０】
親油性部分が、センス鎖の２０位または１５位にコンジュゲートしている、請求項４７に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項５１】
親油性部分が、アンチセンス鎖の１６位にコンジュゲートしている、請求項４７に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項５２】
親油性部分が、脂肪族化合物、脂環式化合物、または多脂環式化合物である、請求項７～５１のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項５３】
親油性部分が、脂質、コレステロール、レチノイン酸、コール酸、アダマンタン酢酸、１－ピレン酪酸、ジヒドロテストステロン、１，３－ビス－Ｏ（ヘキサデシル）グリセロール、ゲラニルオキシヘキサノール、ヘキサデシルグリセロール、ボルネオール、メンソール、１，３－プロパンジオール、ヘプタデシル基、パルミチン酸、ミリスチン酸、Ｏ３－（オレオイル）リトコール酸、Ｏ３－（オレオイル）コレン酸、ジメトキシトリチル、およびフェノキサジンからなる群から選択される、請求項５２に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項５４】
親油性部分が、飽和または不飽和Ｃ４～Ｃ３０炭化水素鎖と、ヒドロキシル、アミン、カルボン酸、スルホネート、ホスフェート、チオール、アジド、およびアルキンからなる群から選択される適宜の官能基とを含有する、請求項５２に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項５５】
親油性部分が、飽和または不飽和Ｃ６～Ｃ１８炭化水素鎖を含有する、請求項５４に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項５６】
親油性部分が、飽和または不飽和Ｃ１６炭化水素鎖を含有する、請求項５４に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項５７】
飽和または不飽和Ｃ１６炭化水素鎖が、鎖の５’端から数えて位置６にコンジュゲートされる、請求項５６に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項５８】
親油性部分が、内部位置または二本鎖領域における１つまたは複数のヌクレオチドに置き換わる担体を介してコンジュゲートされる、請求項７～５７のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項５９】
担体が、ピロリジニル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、［１，３］ジオキソラニル、オキサゾリジニル、イソキサゾリジニル、モルホリニル、チアゾリジニル、イソチアゾリジニル、キノキサリ

ニル、ピリダジノニル、テトラヒドロフラニル、およびデカリニルからなる群から選択される環式基であるか、あるいはセリノール骨格またはジエタノールアミン骨格に基づく非環状部分である、請求項５８に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項６０】
親油性部分が、エーテル、チオエーテル、尿素、カーボネート、アミン、アミド、マレイミド－チオエーテル、ジスルフィド、ホスホジエステル、スルホアミド連結、クリック反応の生成物、またはカルバメートを含有するリンカーを介して二本鎖ｉＲＮＡ剤にコンジュゲートされる、請求項７～５７のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項６１】
親油性部分が、核酸塩基、糖部分、またはヌクレオシド間連結にコンジュゲートされる、請求項７～６０のいずれか一項に記載の二本鎖ｉＲＮＡ剤。
【請求項６２】
親油性部分または標的化リガンドが、ＤＮＡ、ＲＮＡ、ジスルフィド、アミド；ガラクトサミン、グルコサミン、グルコース、ガラクトース、マンノースの官能化された単糖またはオリゴ糖、およびそれらの組合せからなる群から選択される生物切断性リンカーを介してコンジュゲートされる、請求項７～６１のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項６３】
センス鎖の３’端が、アミンを有する環式基であるエンドキャップを介して保護され、前記環式基が、ピロリジニル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、［１，３］ジオキソラニル、オキサゾリジニル、イソオキサゾリジニル、モルホリニル、チアゾリジニル、イソチアゾリジニル、キノキサリニル、ピリダジノニル、テトラヒドロフラニル、およびデカリニルからなる群から選択される、請求項７～６２のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項６４】
神経細胞を標的化する標的化リガンドをさらに含む、請求項７～６１のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項６５】
標的化リガンドがＧａｌＮＡｃコンジュゲートである、請求項７～６１のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項６６】
Ｓｐ立体配置で連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の３’末端における第１のヌクレオチド間連結に存在する末端のキラル修飾、Ｒｐ立体配置で連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の５’末端における第１のヌクレオチド間連結に存在する末端のキラル修飾、およびＲｐ立体配置またはＳｐ立体配置のいずれかで連結リン原子を有する、センス鎖の５’末端における第１のヌクレオチド間連結に存在する末端のキラル修飾をさらに含む、請求項１～６５のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項６７】
Ｓｐ立体配置において連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の３’端における第１および第２のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾
Ｒｐ立体配置において連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の５’端における第１のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾、および
ＲｐまたはＳｐ立体配置のどちらかにおいて連結リン原子を有する、センス鎖の５’端における第１のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾
をさらに含む、請求項１～６５のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項６８】
Ｓｐ立体配置において連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の３’端における第１、第２、および第３のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾
Ｒｐ立体配置において連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の５’端における第１のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾、および
ＲｐまたはＳｐ立体配置のどちらかにおいて連結リン原子を有する、センス鎖の５’端に

おける第１のヌクレオチド間連結において生じる、末端キラル修飾
をさらに含む、請求項１～６５のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項６９】
Ｓｐ立体配置において連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の３’端における第１および第２のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾
Ｒｐ立体配置において連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の３’端における第３のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾
Ｒｐ立体配置において連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の５’端における第１のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾、および
ＲｐまたはＳｐ立体配置のどちらかにおいて連結リン原子を有する、センス鎖の５’端における第１のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾
をさらに含む、請求項１～６５のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項７０】
Ｓｐ立体配置において連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の３’端における第１および第２のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾
Ｒｐ立体配置において連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の５’端における第１および第２のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾、および
ＲｐまたはＳｐ立体配置のどちらかにおいて連結リン原子を有する、センス鎖の５’端における第１のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾
をさらに含む、請求項１～６５のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項７１】
アンチセンス鎖の５’端におけるホスフェートまたはホスフェートミミックをさらに含む、請求項１～７０のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項７２】
ホスフェートミミックが、５’－ビニルホスホネート（ＶＰ）である、請求項７１に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項７３】
二重鎖のアンチセンス鎖の５’端の１つの位置における塩基対が、ＡＵ塩基対である、請求項１～７０のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項７４】
センス鎖が、合計２１ヌクレオチドを有し、アンチセンス鎖が、合計２３ヌクレオチドを有する、請求項１～７０のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項７５】
ｄｓＲＮＡ剤が、ＡＢＬＩＭ３をコードするｍＲＮＡのホットスポット領域を標的化する、請求項１～７４のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ。
【請求項７６】
ホットスポット領域が、配列番号１のヌクレオチド３０４２～３０８１、３４２０～３４５７、４２２３～４２６１、７２６～７６３、１０８０～１１３７、１３４２～１３７９、１９１０～１９５５、２１６７～２２０４、４８０～５２０、１０８０～１１２２、１６２２～１６６５、１７４４～１７８７、２３２３～２３６３、５４０～５７８、１１７５～１２１２、２７４～３１３、３４９～４０１、または２５１８～２５５５を含む、請求項７５に記載のｄｓＲＮＡ剤。
【請求項７７】
ｄｓＲＮＡ剤が、ＡＤ－１８０９７０２、ＡＤ－１８０９７１９、ＡＤ－１８１００３８、ＡＤ－１８１００５３、ＡＤ－１８１０６７６、ＡＤ－１８１０６９２、ＡＤ－１８０７９０４、ＡＤ－１８０７９１９、ＡＤ－１８０８２３８、ＡＤ－１８０８２５８、ＡＤ－１８０８２７３、ＡＤ－１８０８４１８、ＡＤ－１８０８４３３、ＡＤ－１８０８８４２、ＡＤ－１８０８８６５、ＡＤ－１８０９０５１、ＡＤ－１８０９０６６、ＡＤ－１８０７７０７、ＡＤ－１８０７７２５、ＡＤ－１８０８６２８、ＡＤ－１８０８６４９、ＡＤ－１８０８７２７、ＡＤ－１８０８７４８、ＡＤ－１８０９１８７、ＡＤ－１８０９

２０５、ＡＤ－１８０７７６４、ＡＤ－１８０７７８０、ＡＤ－１８０８３１２、ＡＤ－１８０８３２７、ＡＤ－１８０７５６１、ＡＤ－１８０７５７８、ＡＤ－１８０７６１６、ＡＤ－１８０７６３１、ＡＤ－１８０７６４６、ＡＤ－１８０９３５４、およびＡＤ－１８０９３６９からなる群から選択される、請求項７６に記載のｄｓＲＮＡ剤。

【請求項７８】

アクチン結合ＬＩＭタンパク質３（ＡＢＬＩＭ３）ｍＲＮＡのホットスポット領域を標的化する、ｄｓＲＮＡ剤。

【請求項７９】

請求項１～７８のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤を含有する細胞。

【請求項８０】

請求項１～７８のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤を含む、ＡＢＬＩＭ３をコードする遺伝子の発現を阻害するための医薬組成物。

【請求項８１】

請求項１～７８のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤と脂質製剤とを含む医薬組成物。

【請求項８２】

ｄｓＲＮＡ剤が、緩衝化されていない溶液中である、請求項８０または８１に記載の医薬組成物。

【請求項８３】

緩衝化されていない溶液が、生理食塩水または水である、請求項８２に記載の医薬組成物。

【請求項８４】

前記ｄｓＲＮＡ剤が、緩衝溶液中である、請求項８０または８１に記載の医薬組成物。

【請求項８５】

緩衝溶液が、酢酸塩、クエン酸塩、プロラミン、炭酸塩、もしくはリン酸塩またはそれらの任意の組合せを含む、請求項８４に記載の医薬組成物。

【請求項８６】

緩衝溶液が、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）である、請求項８４に記載の医薬組成物。

【請求項８７】

細胞におけるＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現を阻害する方法であって、細胞を、請求項１～７８のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤または請求項８０～８６のいずれか一項に記載の医薬組成物と接触させること、それによって、細胞におけるＡＢＬＩＭ３の発現を阻害することを含む、方法。

【請求項８８】

細胞が、対象内にある、請求項８７に記載の方法。

【請求項８９】

対象がヒトである、請求項８８に記載の方法。

【請求項９０】

対象が、ＡＢＬＩＭ３関連障害を有する、請求項８９に記載の方法。

【請求項９１】

ＡＢＬＩＭ３関連障害がＰＴＳＤである、請求項９０に記載の方法。

【請求項９２】

ＡＢＬＩＭ３関連障害が加齢性記憶喪失である、請求項９０に記載の方法。

【請求項９３】

細胞をｄｓＲＮＡ剤と接触させることが、ＡＢＬＩＭ３の発現を少なくとも３０％阻害する、請求項８７～９２のいずれか一項に記載の方法。

【請求項９４】

ＡＢＬＩＭ３の発現を阻害することが、対象の血清中のＡＢＬＩＭ３タンパク質レベルを少なくとも３０％減少させる、請求項８７～９３のいずれか一項に記載の方法。

【請求項９５】

ＡＢＬＩＭ３発現の低減が有益であろう障害を有する対象を処置する方法であって、治療有効量の請求項１～７８のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤または請求項８０～８６のいずれか一項に記載の医薬組成物を対象に投与すること、それによってＡＢＬＩＭ３発現の低減が有益であろう障害を有する対象を処置することを含む、方法。

【請求項９６】

ＡＢＬＩＭ３発現の低減が有益であろう障害を有する対象における少なくとも１つの症状または兆候を防止する方法であって、予防有効量の請求項１～７８のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤または請求項８０～８６のいずれか一項に記載の医薬組成物を対象に投与すること、それによってＡＢＬＩＭ３発現の低減が有益であろう障害を有する対象における少なくとも１つの症状または兆候を防止することを含む、方法。

【請求項９７】

障害が、ＡＢＬＩＭ３関連障害である、請求項９５または９６に記載の方法。

【請求項９８】

ＡＢＬＩＭ３関連障害が、ＰＴＳＤである、請求項９７に記載の方法。

【請求項９９】

ＡＢＬＩＭ３関連障害が、加齢性記憶喪失である、請求項９７に記載の方法。

【請求項１００】

対象がヒトである、請求項９５～９９のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１０１】

薬剤の対象への投与が、改善された記憶、または不安症、うつ病、恐怖、不穏、敵意、および／もしくは苦痛の減少をもたらす、請求項９５～１００のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１０２】

ｄｓＲＮＡ剤が、約０．０１ｍｇ／ｋｇ～約５０ｍｇ／ｋｇの用量において対象に投与される、請求項９５～１０１のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１０３】

ｄｓＲＮＡ剤が、対象に髄腔内投与される、請求項９５～１０２のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１０４】

対象からの試料中のＡＢＬＩＭ３のレベルを決定することをさらに含む、請求項９５～１０３のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１０５】

対象試料中のＡＢＬＩＭ３のレベルが、血液、血清、または髄液試料中のＡＢＬＩＭ３タンパク質レベルである、請求項１０４に記載の方法。

【請求項１０６】

追加の治療剤を対象に投与することをさらに含む、請求項９５～１０５のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１０７】

請求項１～７８のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤または請求項８０～８６のいずれか一項に記載の医薬組成物を含む、キット。

【請求項１０８】

請求項１～７８のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤または請求項８０～８６のいずれか一項に記載の医薬組成物を含む、バイアル。

【請求項１０９】

請求項１～７８のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤または請求項８０～８６のいずれか一項に記載の医薬組成物を含む、シリンジ。

【請求項１１０】

請求項１～７８のいずれか一項に記載のｄｓＲＮＡ剤または請求項８０～８６のいずれか一項に記載の医薬組成物を含む、髄腔内ポンプ。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】
【０００１】
関連出願への相互参照
本願は、２０２２年５月５日に出願された米国特許仮出願第６３／３３８，６４５号の優先権の利益を主張し、２０２２年６月１５日に出願された米国特許仮出願第６３／３５２，５７３号の優先権の利益を主張する。前記出願の内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。
【０００２】
配列リスト
本願は、ＸＭＬフォーマットにおいて電子的に提出された配列リストを含んでおり、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。２０２３年５月２日に作成されたＸＭＬコピーは、Ａ１０８８６８_１５７０ＷＯ_ＳＬ．ｘｍｌと命名され、４，０２９，０２８バイトのサイズである。
【背景技術】
【０００３】
アクチン結合ＬＩＭタンパク質３タンパク質をコードするアクチン結合ＬＩＭタンパク質３（ＡＢＬＩＭ３）遺伝子は、染色体５上の染色体領域５ｑ３２に位置している。ＡＢＬＩＭ３は、Ｎ末端のＬＩＭドメインおよびＣ末端のデマチン様ドメインによって特徴付けられるアクチン結合ＬＩＭファミリーのタンパク質の一部である。
【０００４】
ＡＢＬＩＭ３は、脳で発現し、脂肪組織、心臓、胎盤、および肝臓などの他の組織でも発現する。ＡＢＬＩＭ３は、アクチン細胞骨格に結合することができ、接着結合に局在し、分岐したＦ－アクチンを安定化させ、そのＬＩＭドメインを通してタンパク質結合境界としても機能する。ＡＢＬＩＭ３は、近年、歯状回顆粒細胞と透明層介在ニューロン（ｓｔｒａｔｕｍ　ｌｕｃｉｄｕｍ　ｉｎｔｅｒｎｅｕｒｏｎ）との連結性における分子ブレーキとして記憶に関連付けられた。学習時に、ＡＢＬＩＭ３のレベルが減少し、遠隔記憶の精度が改善され、遠隔恐怖記憶の汎化が減少する。したがって、ＡＬＢＩＭ３は、外傷後ストレス障害（ＰＴＳＤ）および加齢性記憶喪失に役割を担っている可能性がある。
【０００５】
現在のＰＴＳＤおよび加齢性記憶喪失に対する処置には限りがあり、有効性は低い。したがって、ＰＴＳＤおよび加齢性記憶喪失を処置する、防止する、および／またはその進行もしくは形成を阻害することができる薬剤へのニーズが存在する。
【発明の概要】
【０００６】
本発明の開示は、ＡＢＬＩＭ３遺伝子のＲＮＡ転写物のＲＮＡ誘導型サイレンシング複合体（ＲＩＳＣ）媒介切断を実行する、ＲＮＡｉ組成物を提供する。ＡＢＬＩＭ３遺伝子は、細胞内、例えば、対象、例えばヒト内の細胞内にあり得る。これらのｉＲＮＡの使用は、哺乳動物において、対応する遺伝子（ＡＢＬＩＭ３遺伝子）のｍＲＮＡの標的化された分解を可能にする。
【０００７】
本発明のｉＲＮＡは、ＡＢＬＩＭ３遺伝子、例えば、ＡＢＬＩＭ３野生型遺伝子、および／またはＡＢＬＩＭ３遺伝子変異体を標的化するように設計された。本発明のｉＲＮＡは、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現を少なくとも約３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、または９９％阻害する。理論によって限定されることは意図しないが、これらのｉＲＮＡにおける前述の特性および特異的な標的部位、または特異的な修飾の組合せまたは部分的組合せは、本発明のｉＲＮＡに改善された有効性、安定性、効力、耐久性、および安全性を付与すると考えられる。一態様において、本発明は、ＡＢＬＩＭ３の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡ）剤であって、ｄｓＲＮＡ剤は、二本鎖領域を形成するセンス鎖およびアンチセンス鎖を含み、センス鎖は、配列番号１のヌクレオチド配列と３個以下

のヌクレオチドが異なる少なくとも１５個の連続するヌクレオチドを含み、アンチセンス鎖は、配列番号２のヌクレオチド配列と３個以下のヌクレオチドが異なる少なくとも１５個の連続するヌクレオチドを含む、ｄｓＲＮＡ剤を提供する。

【０００８】

別の態様において、本発明は、ＡＢＬＩＭ３の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡ）剤であって、ｄｓＲＮＡ剤は、二本鎖領域を形成するセンス鎖およびアンチセンス鎖を含み、アンチセンス鎖は、ＡＢＬＩＭ３をコードするｍＲＮＡに対して相補性の領域を含み、相補性の領域は、配列番号２のヌクレオチド配列と３個以下のヌクレオチドが異なる少なくとも１５個の連続するヌクレオチドを含む、ｄｓＲＮＡ剤を提供する。

【０００９】

さらに別の態様において、本発明は、ＡＢＬＩＭ３の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡ）剤であって、ｄｓＲＮＡ剤は、二本鎖領域を形成するセンス鎖およびアンチセンス鎖を含み、アンチセンス鎖は、ＡＢＬＩＭ３をコードするｍＲＮＡに対して相補性の領域を含み、相補性の領域は、表３または４におけるアンチセンスヌクレオチド配列のいずれか１つと３個以下のヌクレオチドが異なる少なくとも１５個の連続するヌクレオチドを含む、ｄｓＲＮＡ剤を提供する。

【００１０】

一実施形態において、センス鎖は、配列番号１のヌクレオチド８２～１０２、１３４～１５４、２３２～２５２、２７６～２９６、２９３～３１３、３２６～３４６、３５１～３７１、３６６～３８６、３８１～４０１、４１４～４３４、４８２～５０２、５００～５２０、５４２～５６２、５５８～５７８、５８２～６０２、６２２～６４２、６７４～６９４、６９２～７１２、７１３～７３３、７２８～７４８、７４３～７６３、７７９～７９９、８８７～９０７、９４２～９６２、９８３～１００３、１００１～１０２１、１０８２～１１０２、１１０２～１１２２、１１１７～１１３７、１１７７～１１９７、１１９２～１２１２、１２４２～１２６２、１２６９～１２８９、１３１３～１３３３、１３４４～１３６４、１３５９～１３７９、１３７４～１３９４、１４０８～１４２８、１４３７～１４５７、１５５０～１５７０、１５９４～１６１４、１６２４～１６４４、１６４５～１６６５、１６７４～１６９４、１７１５～１７３５、１７４６～１７６６、１７６７～１７８７、１８１２～１８３２、１８５９～１８７９、１８８４～１９０４、１９１２～１９３２、１９３５～１９５５、１９７１～１９９１、２０３９～２０５９、２０９６～２１１６、２１２７～２１４７、２１６９～２１８９、２１８４～２２０４、２２１８～２２３８、２２４５～２２６５、２２７３～２２９３、２３２５～２３４５、２３４３～２３６３、２３８５～２４０５、２４２２～２４４２、２４５９～２４７９、２４８３～２５０３、２５２０～２５４０、２５３５～２５５５、２５６１～２５８１、２５８５～２６０５、２６６７～２６８７、２７０３～２７２３、２７２９～２７４９、２７６４～２７８４、２７８８～２８０８、２８３０～２８５０、２８６１～２８８１、２８８５～２９０５、２９３７～２９５７、２９５８～２９７８、２９７４～２９９４、３０１１～３０３１、３０４４～３０６４、３０６１～３０８１、３０７９～３０９９、３１１０～３１３０、３１４６～３１６６、３２０３～３２２３、３２２０～３２４０、３２７９～３２９９、３３０３～３３２３、３３２１～３３４１、３３３８～３３５８、３３８８～３４０８、３４０７～３４２７、３４２２～３４４２、３４３７～３４５７、３４５２～３４７２、３５３２～３５５２、３５４８～３５６８、３５７９～３５９９、３５９４～３６１４、３６２６～３６４６、３６４４～３６６４、３６８２～３７０２、３７０６～３７２６、３７２１～３７４１、３７４６～３７６６、３７６３～３７８３、３７９６～３８１６、３８１４～３８３４、３８４９～３８６９、３８６６～３８８６、３８９７～３９１７、３９１９～３９３９、３９８６～４００６、４０１８～４０３８、４０３７～４０５７、４０５８～４０７８、４０８４～４１０４、４０９９～４１１９、４１３１～４１５１、４１５９～４１７９、４２２５～４２４５、４２４１～４２６１、４２７６～４２９６、４２９１～４３１１、４３０６～４３２６、４３３６～４３５６、４３５４～４３７４、４３６９～４３８９、４３８７～４４０７、４４０４～４４２４、ま

たは４４２１～４４４１のヌクレオチド配列のいずれか１つと３個以下のヌクレオチドが異なる少なくとも１５個の連続するヌクレオチドを含み、アンチセンス鎖は、配列番号２の対応するヌクレオチド配列からの少なくとも１５個の連続するヌクレオチドを含む。

【００１１】

一実施形態において、アンチセンス鎖は、ＡＤ－１８０７４５５、ＡＤ－１８０７４８１、ＡＤ－１８０７５３９、ＡＤ－１８０７５６１、ＡＤ－１８０７５７８、ＡＤ－１８０７５９１、ＡＤ－１８０７６１６、ＡＤ－１８０７６３１、ＡＤ－１８０７６４６、ＡＤ－１８０７６５９、ＡＤ－１８０７７０７、ＡＤ－１８０７７２５、ＡＤ－１８０７７６４、ＡＤ－１８０７７８０、ＡＤ－１８０７８０４、ＡＤ－１８０７８４４、ＡＤ－１８０７８７０、ＡＤ－１８０７８８８、ＡＤ－１８０７８８９、ＡＤ－１８０７９０４、ＡＤ－１８０７９１９、ＡＤ－１８０７９５５、ＡＤ－１８０８０６３、ＡＤ－１８０８０９８、ＡＤ－１８０８１３９、ＡＤ－１８０８１５７、ＡＤ－１８０８２３８、ＡＤ－１８０８２５８、ＡＤ－１８０８２７３、ＡＤ－１８０８３１２、ＡＤ－１８０８３２７、ＡＤ－１８０８３５６、ＡＤ－１８０８３８３、ＡＤ－１８０８４０７、ＡＤ－１８０８４１８、ＡＤ－１８０８４３３、ＡＤ－１８０８４４８、ＡＤ－１８０８４８２、ＡＤ－１８０８５１１、ＡＤ－１８０８５６１、ＡＤ－１８０８５９８、ＡＤ－１８０８６２８、ＡＤ－１８０８６４９、ＡＤ－１８０８６７８、ＡＤ－１８０８６９８、ＡＤ－１８０８７２７、ＡＤ－１８０８７４８、ＡＤ－１８０８７７３、ＡＤ－１８０８７８９、ＡＤ－１８０８８１４、ＡＤ－１８０８８４２、ＡＤ－１８０８８６５、ＡＤ－１８０８９０１、ＡＤ－１８０８９４１、ＡＤ－１８０８９７８、ＡＤ－１８０９００９、ＡＤ－１８０９０５１、ＡＤ－１８０９０６６、ＡＤ－１８０９０８０、ＡＤ－１８０９１０７、ＡＤ－１８０９１３５、ＡＤ－１８０９１８７、ＡＤ－１８０９２０５、ＡＤ－１８０９２４６、ＡＤ－１８０９２８３、ＡＤ－１８０９２９３、ＡＤ－１８０９３１７、ＡＤ－１８０９３５４、ＡＤ－１８０９３６９、ＡＤ－１８０９３９５、ＡＤ－１８０９４１４、ＡＤ－１８０９４５６、ＡＤ－１８０９４７２、ＡＤ－１８０９４９８、ＡＤ－１８０９５１１、ＡＤ－１８０９５３５、ＡＤ－１８０９５５０、ＡＤ－１８０９５６１、ＡＤ－１８０９５８５、ＡＤ－１８０９５９６、ＡＤ－１８０９６１７、ＡＤ－１８０９６３３、ＡＤ－１８０９６７０、ＡＤ－１８０９７０２、ＡＤ－１８０９７１９、ＡＤ－１８０９７３７、ＡＤ－１８０９７５７、ＡＤ－１８０９７７３、ＡＤ－１８０９８２２、ＡＤ－１８０９８３９、ＡＤ－１８０９８９５、ＡＤ－１８０９９１９、ＡＤ－１８０９９３７、ＡＤ－１８０９９５４、ＡＤ－１８１０００４、ＡＤ－１８１００２３、ＡＤ－１８１００３８、ＡＤ－１８１００５３、ＡＤ－１８１００６８、ＡＤ－１８１０１２７、ＡＤ－１８１０１４３、ＡＤ－１８１０１７４、ＡＤ－１８１０１８９、ＡＤ－１８１０２２１、ＡＤ－１８１０２３９、ＡＤ－１８１０２５５、ＡＤ－１８１０２７７、ＡＤ－１８１０２９２、ＡＤ－１８１０２９６、ＡＤ－１８１０３１３、ＡＤ－１８１０３４５、ＡＤ－１８１０３６３、ＡＤ－１８１０３９８、ＡＤ－１８１０４１５、ＡＤ－１８１０４４６、ＡＤ－１８１０４６８、ＡＤ－１８１０４９４、ＡＤ－１８１０５２６、ＡＤ－１８１０５４５、ＡＤ－１８１０５６６、ＡＤ－１８１０５９１、ＡＤ－１８１０６０６、ＡＤ－１８１０６３８、ＡＤ－１８１０６６６、ＡＤ－１８１０６７６、ＡＤ－１８１０６９２、ＡＤ－１８１０７２７、ＡＤ－１８１０７４２、ＡＤ－１８１０７５７、ＡＤ－１８１０７６７、ＡＤ－１８１０７８５、ＡＤ－１８１０８００、ＡＤ－１８１０８１８、ＡＤ－１８１０８２２、およびＡＤ－１８１０８３９からなる群から選択される二重鎖のアンチセンス鎖ヌクレオチド配列のいずれか１つと３個以下のヌクレオチドが異なる少なくとも１５個の連続するヌクレオチドを含む。

【００１２】

一部の実施形態において、センスおよびアンチセンス鎖のヌクレオチド配列は、表３または４におけるセンス鎖ヌクレオチド配列のいずれか１つを含む。

【００１３】

一実施形態において、センス鎖、アンチセンス鎖、またはセンス鎖とアンチセンス鎖の両方は、１つまたは複数の親油性部分にコンジュゲートしている。

【００１４】
一実施形態において、親油性部分は、ｄｓＲＮＡ剤の二本鎖領域における１つまたは複数の内部位置にコンジュゲートしている。
【００１５】
一実施形態において、親油性部分は、リンカーまたは担体を介してコンジュゲートしている。
【００１６】
一実施形態において、ｌｏｇＫｏｗによって測定された親油性部分の親油性は、０を超える。
【００１７】
一実施形態において、二本鎖ＲＮＡｉ剤の血漿タンパク質結合アッセイにおける未結合分画によって測定された二本鎖ＲＮＡｉ剤の疎水性は、０．２を超える。
【００１８】
一実施形態において、血漿タンパク質結合アッセイは、ヒト血清アルブミンタンパク質を使用する電気泳動移動度シフトアッセイである。
【００１９】
一部の実施形態において、ｄｓＲＮＡ剤は、少なくとも１つの修飾されたヌクレオチドを含む。
【００２０】
一実施形態において、センス鎖ヌクレオチドの５個以下およびアンチセンス鎖のヌクレオチドの５個以下は、修飾されていないヌクレオチドである。
【００２１】
一実施形態において、センス鎖のヌクレオチドの全ておよびアンチセンス鎖のヌクレオチドの全ては、修飾されたヌクレオチドである。
【００２２】
一実施形態において、修飾されたヌクレオチドの少なくとも１つは、デオキシヌクレオチド、３’末端デオキシチミジン（ｄｅｏｘｙｔｈｉｍｉｄｉｎｅ）（ｄＴ）ヌクレオチド、２’－Ｏ－メチル修飾されたヌクレオチド、２’－フルオロ修飾されたヌクレオチド、２’－デオキシ修飾されたヌクレオチド、ロックドヌクレオチド、非ロックドヌクレオチド、立体配座的に制限されたヌクレオチド、拘束エチルヌクレオチド、脱塩基ヌクレオチド、２’－アミノ変性ヌクレオチド、２’－Ｏ－アリル修飾されたヌクレオチド、２’－Ｃ－アルキル修飾されたヌクレオチド、２’－ヒドロキシル（ｈｙｄｒｏｘｌｙ）修飾されたヌクレオチド、２’－メトキシエチル修飾されたヌクレオチド、２’－Ｏ－アルキル修飾されたヌクレオチド、モルホリノヌクレオチド、ホスホルアミデート、非天然塩基を含むヌクレオチド、テトラヒドロピラン修飾されたヌクレオチド、１，５－アンヒドロヘキシトール修飾されたヌクレオチド、シクロヘキセニル修飾されたヌクレオチド、５’－ホスホロチオエート基を含むヌクレオチド、５’－メチルホスホネート基を含むヌクレオチド、５’ホスフェートまたは５’ホスフェートミミックを含むヌクレオチド、ビニルホスホネートを含むヌクレオチド、グリコール核酸（ＧＮＡ）（例えば、アデノシン－グリコール核酸（ＧＮＡ）を含むヌクレオチド）、Ｓ－グリコール核酸（Ｓ－ＧＮＡ）（例えば、チミジン－グリコール核酸（ＧＮＡ）Ｓ－異性体を含むヌクレオチド）、２－ヒドロキシメチル－テトラヒドロフラン－５－ホスフェートを含むヌクレオチド、２’－デオキシチミジン－３’ホスフェートを含むヌクレオチド、２’－デオキシグアノシン－３’－ホスフェートを含むヌクレオチド、２’ホスフェートを含むヌクレオチド（「３’－ＲＮＡ」、例えば、Ｇ２ｐ、Ｃ２ｐ、Ａ２ｐ、Ｕ２ｐ）、ならびにコレステリル誘導体およびドデカン酸ビスデシルアミド基に連結された末端ヌクレオチド；ならびにそれらの組合せからなる群から選択される。
【００２３】
一実施形態において、修飾されたヌクレオチドは、２’－デオキシ－２’－フルオロ修飾されたヌクレオチド、２’－デオキシ修飾されたヌクレオチド、３’末端デオキシチミジン

ヌクレオチド（ｄＴ）、ロックドヌクレオチド、脱塩基ヌクレオチド、２’－アミノ変性ヌクレオチド、２’－アルキル修飾されたヌクレオチド、モルホリノヌクレオチド、ホスホルアミデート、および非天然塩基を含むヌクレオチドからなる群から選択される。

【００２４】

一実施形態において、修飾されたヌクレオチドは、３’末端デオキシチミジンヌクレオチド（ｄＴ）の短い配列を含む。

【００２５】

一実施形態において、ヌクレオチドへの修飾は、２’－Ｏ－メチル、ＧＮＡ、および２’－フルオロ修飾である。

【００２６】

一部の実施形態において、ｄｓＲＮＡ剤は、少なくとも１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結をさらに含む。

【００２７】

一実施形態において、ｄｓＲＮＡ剤は、６～８個のホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む。

【００２８】

一実施形態において、各鎖は、３０ヌクレオチド以下の長さである。

【００２９】

一実施形態において、少なくとも１つの鎖は、少なくとも１ヌクレオチドの３’オーバーハングを含む。別の実施形態において、少なくとも１つの鎖は、少なくとも２ヌクレオチドの３’オーバーハングを含む。

【００３０】

二本鎖領域は、１５～３０ヌクレオチド対の長さ；１７～２３ヌクレオチド対の長さ；１７～２５ヌクレオチド対の長さ；２３～２７ヌクレオチド対の長さ；１９～２１ヌクレオチド対の長さ；または２１～２３ヌクレオチド対の長さであってもよい。
各鎖は、１９～３０ヌクレオチド；１９～２３ヌクレオチド；または２１～２３ヌクレオチドを有してもよい。

【００３１】

一実施形態において、１つまたは複数の親油性部分は、少なくとも１つの鎖上の１つまたは複数の内部位置に、例えばリンカーまたは担体を介してコンジュゲートしている。

【００３２】

一実施形態において、内部位置は、少なくとも１つの鎖の各末端からの末端の２つの位置を除く全ての位置を含む。

【００３３】

別の実施形態において、内部位置は、少なくとも１つの鎖の各末端からの末端の３つの位置を除く全ての位置を含む。

【００３４】

一実施形態において、内部位置は、センス鎖の切断部位領域を除く。

【００３５】

一実施形態において、内部位置は、センス鎖の５’端から数えて位置９～１２を除く全ての位置を含む。

【００３６】

別の実施形態において、内部位置は、センス鎖の３’端から数えて位置１１～１３を除く全ての位置を含む。

【００３７】

一実施形態において、内部位置は、アンチセンス鎖の切断部位領域を除く。

【００３８】

一実施形態において、内部位置は、アンチセンス鎖の５’端から数えて位置１２～１４を除く全ての位置を含む。

【００３９】

一実施形態において、内部位置は、センス鎖の３’端から数えて位置１１～１３とアンチセンス鎖の５’端から数えて位置１２～１４とを除く全ての位置を含む。

【００４０】

一実施形態において、１つまたは複数の親油性部分は、各鎖の５’端から数えて、センス鎖における位置４～８および１３～１８ならびにアンチセンス鎖における位置６～１０および１５～１８からなる群から選択される内部位置の１つまたは複数にコンジュゲートされる。

【００４１】

別の実施形態において、１つまたは複数の親油性部分は、各鎖の５’端から数えて、センス鎖における位置５、６、７、１５、および１７ならびにアンチセンス鎖における位置１５および１７からなる群から選択される内部位置の１つまたは複数にコンジュゲートされる。

【００４２】

一実施形態において、二本鎖領域における内部位置は、センス鎖の切断部位領域を除く。

【００４３】

一実施形態において、センス鎖は、２１ヌクレオチド長であり、アンチセンス鎖は、２３ヌクレオチド長であり、親油性部分は、センス鎖の位置２１、位置２０、位置１５、位置１、位置７、位置６、もしくは位置２またはアンチセンス鎖の位置１６にコンジュゲートされる。

【００４４】

一実施形態において、親油性部分は、センス鎖の位置２１、位置２０、位置１５、位置１、または位置７にコンジュゲートされる。

【００４５】

別の実施形態において、親油性部分は、センス鎖の２１位、２０位、または１５位にコンジュゲートしている。

【００４６】

さらに別の実施形態において、親油性部分は、センス鎖の２０位または１５位にコンジュゲートしている。

【００４７】

一実施形態において、親油性部分は、アンチセンス鎖の位置１６にコンジュゲートされる。

【００４８】

一実施形態において、親油性部分は、脂肪族化合物、脂環式化合物、または多脂環式化合物である。

【００４９】

一実施形態において、親油性部分は、脂質、コレステロール、レチノイン酸、コール酸、アダマンタン酢酸、１－ピレン酪酸、ジヒドロテストステロン、１，３－ビス－Ｏ（ヘキサデシル）グリセロール、ゲラニルオキシヘキサノール、ヘキサデシルグリセロール、ボルネオール、メンソール、１，３－プロパンジオール、ヘプタデシル基、パルミチン酸、ミリスチン酸、Ｏ３－（オレオイル）リトコール酸、Ｏ３－（オレオイル）コレン酸、ジメトキシトリチル、またはフェノキサジンからなる群から選択される。

【００５０】

一実施形態において、親油性部分は、飽和または不飽和Ｃ４～Ｃ３０炭化水素鎖と、ヒドロキシル、アミン、カルボン酸、スルホネート、ホスフェート、チオール、アジド、およびアルキンからなる群から選択される適宜の官能基とを含有する。

【００５１】

一実施形態において、親油性部分は、飽和または不飽和Ｃ６～Ｃ１８炭化水素鎖を含有する。

【００５２】

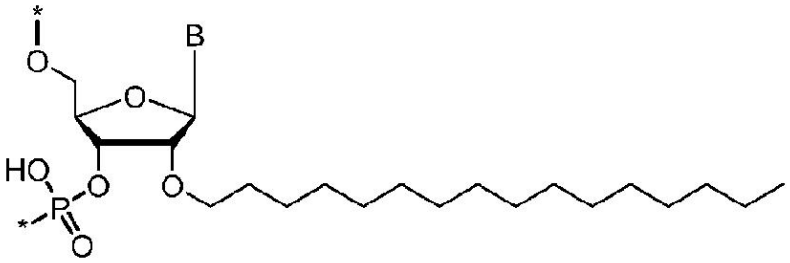
一実施形態において、親油性部分は、飽和または不飽和Ｃ１６炭化水素鎖を含有する。

【００５３】

一実施形態において、リガンドは、センスまたはアンチセンス鎖内のヌクレオチドまたは修飾ヌクレオチドの２’位置にコンジュゲートされる。例えば、Ｃ１６リガンドは、以下の構造に示されるようにコンジュゲートされてもよい。

【００５４】

【化１】



（式中、＊は、隣接するヌクレオチドへの結合を表し、Ｂは、核酸塩基または核酸塩基類似体であり、ここでは、Ｂは、アデニン、グアニン、シトシン、チミン、またはウラシルであってもよい）。

【００５５】

一実施形態において、飽和または不飽和Ｃ１６炭化水素鎖は、鎖の５’端から数えて位置６にコンジュゲートされる。

【００５６】

一実施形態において、親油性部分は、内部位置または二本鎖領域における１つまたは複数のヌクレオチドに置き換わる担体を介してコンジュゲートされる。

【００５７】

一実施形態において、担体は、ピロリジニル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、［１，３］ジオキソラニル、オキサゾリジニル、イソキサゾリジニル、モルホリニル、チアゾリジニル、イソチアゾリジニル、キノキサリニル、ピリダジノニル、テトラヒドロフラニル、およびデカリニルからなる群から選択される環式基であるか；またはセリノール骨格もしくはジエタノールアミン骨格に基づく非環状部分である。

【００５８】

一実施形態において、親油性部分は、エーテル、チオエーテル、尿素、カーボネート、アミン、アミド、マレイミド－チオエーテル、ジスルフィド、リン酸ジエステル、スルホンアミド連結、クリック反応の生成物、またはカルバメートを含有するリンカーを介して、二本鎖ｉＲＮＡ剤にコンジュゲートしている。

【００５９】

一実施形態において、親油性部分は、核酸塩基、糖部分、またはヌクレオシド間連結にコンジュゲートされる。

【００６０】

一実施形態において、親油性部分または標的化リガンドは、ＤＮＡ、ＲＮＡ、ジスルフィド、アミド；ガラクトサミン、グルコサミン、グルコース、ガラクトース、マンノースの官能化された単糖またはオリゴ糖、およびそれらの組合せからなる群から選択される生物切断性リンカーを介してコンジュゲートされる。

【００６１】

一実施形態において、センス鎖の３’端は、アミンを有する環式基であるエンドキャップを介して保護され、環式基は、ピロリジニル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、［１，３］ジオキソラニル、オキサゾリジニル、イソキサゾリジニル、モルホリニル、チアゾリジニル、イソチアゾ

リジニル、キノキサリニル、ピリダジノニル、テトラヒドロフラニル、およびデカリニルからなる群から選択される。

【００６２】

一実施形態において、標的化リガンドは、ＧａｌＮＡｃコンジュゲートである。

【００６３】

一実施形態において、ｄｓＲＮＡ剤は、Ｓｐ立体配置において連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の３’端における第１のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾、Ｒｐ立体配置において連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の５’端における第１のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾、およびＲｐ立体配置またはＳｐ立体配置のどちらかにおいて連結リン原子を有する、センス鎖の５’端における第１のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾をさらに含む。

【００６４】

別の実施形態において、ｄｓＲＮＡ剤は、Ｓｐ立体配置において連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の３’端における第１および第２のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾、Ｒｐ立体配置において連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の５’端における第１のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾、およびＲｐまたはＳｐ立体配置のどちらかにおいて連結リン原子を有する、センス鎖の５’端における第１のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾をさらに含む。

【００６５】

さらに別の実施形態において、ｄｓＲＮＡ剤は、Ｓｐ立体配置において連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の３’端における第１、第２、および第３のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾、Ｒｐ立体配置において連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の５’端における第１のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾、およびＲｐまたはＳｐ立体配置のどちらかにおいて連結リン原子を有する、センス鎖の５’端における第１のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾をさらに含む。

【００６６】

別の実施形態において、ｄｓＲＮＡ剤は、Ｓｐ配置で連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の３’末端における第１および第２のヌクレオチド間連結で起こる末端キラル修飾、Ｒｐ配置で連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の３’末端における第３のヌクレオチド間連結で起こる末端キラル修飾、Ｒｐ配置で連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の５’末端における第１のヌクレオチド間連結で起こる末端キラル修飾、およびＲｐまたはＳｐ配置のいずれかで連結リン原子を有する、センス鎖の５’末端における第１のヌクレオチド間連結で起こる末端キラル修飾をさらに含む。

【００６７】

別の実施形態において、ｄｓＲＮＡ剤は、Ｓｐ立体配置において連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の３’端における第１および第２のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾、Ｒｐ立体配置において連結リン原子を有する、アンチセンス鎖の５’端における第１および第２のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾、およびＲｐまたはＳｐ立体配置のどちらかにおいて連結リン原子を有する、センス鎖の５’端における第１のヌクレオチド間連結において生じる末端キラル修飾をさらに含む。

【００６８】

一実施形態において、ｄｓＲＮＡ剤は、アンチセンス鎖の５’端におけるホスフェートまたはホスフェートミミックをさらに含む。

【００６９】

一実施形態において、ホスフェートミミックは、５’－ビニルホスホネート（ＶＰ）である。

【００７０】

一実施形態において、二重鎖のアンチセンス鎖の５’端の１つの位置の塩基対は、ＡＵ塩基対である。

【００７１】

一実施形態において、センス鎖は、合計２１のヌクレオチドを有し、アンチセンス鎖は、合計２３のヌクレオチドを有する。

【００７２】

別の態様において、本発明は、細胞におけるアクチン結合ＬＩＭタンパク質３（ＡＢＬＩＭ３）の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡ）剤であって、ｄｓＲＮＡ剤は、二本鎖領域を形成するセンス鎖およびアンチセンス鎖を含む、ｄｓＲＮＡ剤を提供する。センス鎖は、表３または４における薬剤のいずれか１つのヌクレオチド配列を含み、アンチセンス鎖は、表３または４における薬剤のいずれか１つのヌクレオチド配列を含む。センス鎖のヌクレオチドの実質的に全ておよびアンチセンス鎖のヌクレオチドの実質的に全ては修飾ヌクレオチドであり、ｄｓＲＮＡ剤は、リガンドにコンジュゲートされる。

【００７３】

前記ｄｓＲＮＡ剤の種々の実施形態において、ｄｓＲＮＡ剤は、ＡＢＬＩＭ３をコードするｍＲＮＡのホットスポット領域を標的化する。一実施形態において、ホットスポット領域は、配列番号１のヌクレオチド３０４２～３０８１、３４２０～３４５７、４２２３～４２６１、７２６～７６３、１０８０～１１３７、１３４２～１３７９、１９１０～１９５５、２１６７～２２０４、４８０～５２０、１０８０～１１２２、１６２２～１６６５、１７４４～１７８７、２３２３～２３６３、５４０～５７８、１１７５～１２１２、２７４～３１３、３４９～４０１、または２５１８～２５５５を含む。ｄｓＲＮＡ剤は、ＡＤ－１８０９７０２、ＡＤ－１８０９７１９、ＡＤ－１８１００３８、ＡＤ－１８１００５３、ＡＤ－１８１０６７６、ＡＤ－１８１０６９２、ＡＤ－１８０７９０４、ＡＤ－１８０７９１９、ＡＤ－１８０８２３８、ＡＤ－１８０８２５８、ＡＤ－１８０８２７３、ＡＤ－１８０８４１８、ＡＤ－１８０８４３３、ＡＤ－１８０８８４２、ＡＤ－１８０８８６５、ＡＤ－１８０９０５１、ＡＤ－１８０９０６６、ＡＤ－１８０７７０７、ＡＤ－１８０７７２５、ＡＤ－１８０８６２８、ＡＤ－１８０８６４９、ＡＤ－１８０８７２７、ＡＤ－１８０８７４８、ＡＤ－１８０９１８７、ＡＤ－１８０９２０５、ＡＤ－１８０７７６４、ＡＤ－１８０７７８０、ＡＤ－１８０８３１２、ＡＤ－１８０８３２７、ＡＤ－１８０７５６１、ＡＤ－１８０７５７８、ＡＤ－１８０７６１６、ＡＤ－１８０７６３１、ＡＤ－１８０７６４６、ＡＤ－１８０９３５４、およびＡＤ－１８０９３６９からなる群から選択されてもよい。

【００７４】

別の態様において、本発明は、アクチン結合ＬＩＭタンパク質３（ＡＢＬＩＭ３）ｍＲＮＡのホットスポット領域を標的化するｄｓＲＮＡ剤を提供する。

【００７５】

本発明はまた、本発明のｄｓＲＮＡ剤を含む、ＡＢＬＩＭ３をコードする遺伝子の発現を阻害するための細胞および医薬組成物も提供する。

【００７６】

一実施形態において、ｄｓＲＮＡ剤は、緩衝化されていない溶液、例えば生理食塩水または水中である。

【００７７】

別の実施形態において、ｄｓＲＮＡ剤は、緩衝溶液、例えば、酢酸塩、クエン酸塩、プロラミン、炭酸塩、もしくはリン酸塩またはそれらの任意の組合せを含む緩衝溶液；またはリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）中である。

【００７８】

一態様において、本発明は、細胞におけるＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現を阻害する方法であって、細胞を、本発明のｄｓＲＮＡ剤または本発明の医薬組成物と接触させること、それによって細胞におけるＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現を阻害することを含む、方法を提供する。

【００７９】

一実施形態において、細胞は、対象内にある。

【００８０】
一実施形態において、細胞は、中枢神経系（ＣＮＳ）細胞である。別の実施形態において、細胞は、脳細胞である。ある特定の実施形態において、細胞は、星状細胞、ニューロン、またはオリゴデンドロサイトである。
【００８１】
一実施形態において、対象はヒトである。
【００８２】
一実施形態において、対象は、ＡＢＬＩＭ３関連障害を有する。
【００８３】
一実施形態において、対象は、外傷後ストレス障害（ＰＴＳＤ）を有する。一実施形態において、対象は、加齢性記憶喪失を有する。
【００８４】
一実施形態において、細胞をｄｓＲＮＡ剤と接触させることは、ＡＢＬＩＭ３の発現を少なくとも３０％阻害する。
【００８５】
一実施形態において、ＡＢＬＩＭ３の発現を阻害することは、対象の血清中のＡＢＬＩＭ３タンパク質レベルを少なくとも３０％減少させる。
【００８６】
一態様において、本発明は、ＡＢＬＩＭ３発現の低減が有益であろう障害を有する対象を処置する方法であって、治療有効量の本発明のｄｓＲＮＡ剤または本発明の医薬組成物を対象に投与すること、それによってＡＢＬＩＭ３発現の低減が有益であろう障害を有する対象を処置することを含む、方法を提供する。
【００８７】
別の態様において、本発明は、ＡＢＬＩＭ３発現の低減が有益であろう障害を有する対象における少なくとも１つの症状または兆候を防止する方法であって、予防有効量の本発明のｄｓＲＮＡ剤または本発明の医薬組成物を対象に投与すること、それによってＡＢＬＩＭ３発現の低減が有益であろう障害を有する対象における少なくとも１つの症状または兆候を防止することを含む、方法を提供する。
【００８８】
別の態様において、本発明は、対象が、ＡＢＬＩＭ３発現の低減が有益であろう障害を有することを防止する方法であって、予防有効量の本発明のｄｓＲＮＡ剤または本発明の医薬組成物を対象に投与すること、それによって対象が、ＡＢＬＩＭ３発現の低減が有益であろう障害を有することを防止することを含む、方法を提供する。
【００８９】
一実施形態において、障害は、ＡＢＬＩＭ３関連障害である。
【００９０】
一実施形態において、障害は、外傷後ストレス障害（ＰＴＳＤ）である。
【００９１】
一実施形態において、障害は、加齢性記憶喪失である。
【００９２】
一実施形態において、対象はヒトである。
【００９３】
一実施形態において、対象への薬剤の投与は、改善された記憶、または不安症、うつ病、恐怖、不穏、敵意、および／もしくは苦痛の減少をもたらす。
【００９４】
一実施形態において、ｄｓＲＮＡ剤は、約０．０１ｍｇ／ｋｇ～約５０ｍｇ／ｋｇの用量において対象に投与される。
【００９５】
一実施形態において、ｄｓＲＮＡ剤は、対象に皮下投与される。
【００９６】

別の実施形態において、ｄｓＲＮＡ剤は、対象に髄腔内投与される。
【００９７】
一実施形態において、本発明の方法は、対象からの試料中のＡＢＬＩＭ３のレベルを決定することをさらに含む。
【００９８】
一実施形態において、対象試料におけるＡＢＬＩＭ３のレベルは、血液、血清、または髄液試料中のＡＢＬＩＭ３タンパク質レベルである。
【００９９】
一実施形態において、本発明の方法は、追加の治療剤を対象に投与することをさらに含む。
【０１００】
一態様において、本発明は、本発明のｄｓＲＮＡ剤または本発明の医薬組成物を含むキットを提供する。
【０１０１】
別の態様において、本発明は、本発明のｄｓＲＮＡ剤または本発明の医薬組成物を含むバイアルを提供する。
【０１０２】
さらに別の態様において、本発明は、本発明のｄｓＲＮＡ剤または本発明の医薬組成物を含むシリンジを提供する。
【０１０３】
別の態様において、本発明は、本発明のｄｓＲＮＡ剤、または本発明の医薬組成物を含む、髄腔内ポンプを提供する。
【発明を実施するための形態】
【０１０４】
本発明の開示は、ＡＢＬＩＭ３遺伝子のＲＮＡ転写物のＲＮＡ誘導型サイレンシング複合体（ＲＩＳＣ）媒介切断を実行する、ＲＮＡｉ組成物を提供する。ＡＢＬＩＭ３遺伝子は、細胞内、例えば、ヒトなどの対象内の細胞内にあり得る。これらのｉＲＮＡの使用は、哺乳動物における対応する遺伝子（ＡＢＬＩＭ３遺伝子）のｍＲＮＡの標的化された分解を可能にする。
【０１０５】
本発明のｉＲＮＡは、ＡＢＬＩＭ３遺伝子、例えば、ヌクレオチド修飾を有するまたは有さないＡＢＬＩＭ３遺伝子を標的化するように設計された。本発明のｉＲＮＡは、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現を少なくとも約３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、または９９％阻害する。理論によって制限されることを意図するわけではないが、先述の特性と、特定の標的部位、またはこれらのｉＲＮＡｓの特定の修飾との組合せまたは部分的組合せは、本発明のｉＲＮＡに、改良された効率、安定性、効力、耐久性、および安全性を付与すると考えられる。
【０１０６】
したがって、本発明の開示はまた、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現を阻害するための、またはＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現の阻害または低減が有益であろう障害、例えば、ＰＴＳＤ、もしくは加齢性記憶喪失を有する対象を処置するための、本開示のＲＮＡｉ組成物の使用方法も提供する。
【０１０７】
本開示のＲＮＡｉ剤は、約３０ヌクレオチド以下の長さ、例えば、１５～３０、１５～２９、１５～２８、１５～２７、１５～２６、１５～２５、１５～２４、１５～２３、１５～２２、１５～２１、１５～２０、１５～１９、１５～１８、１５～１７、１８～３０、１８～２９、１８～２８、１８～２７、１８～２６、１８～２５、１８～２４、１８～２３、１８～２２、１８～２１、１８～２０、１９～３０、１９～２９、１９～２８、１９～２７、１９～２６、１９～２５、１９～２４、１９～２３、１９～２２、１９～２１

、１９～２０、２０～３０、２０～２９、２０～２８、２０～２７、２０～２６、２０～２５、２０～２４、２０～２３、２０～２２、２０～２１、２１～３０、２１～２９、２１～２８、２１～２７、２１～２６、２１～２５、２１～２４、２１～２３、または２１～２２ヌクレオチドの長さの領域を有するＲＮＡ鎖（アンチセンス鎖）を含み、この領域は、ＡＢＬＩＭ３遺伝子のｍＲＮＡ転写物の少なくとも一部、例えば、ＡＢＬＩＭ３のエクソンに対して実質的に相補的である。ある特定の実施形態において、本開示のＲＮＡｉ剤は、約２１～２３ヌクレオチド長である領域を有し、領域が、ＡＢＬＩＭ３遺伝子のｍＲＮＡ転写物の少なくとも一部に対して実質的に相補的である、ＲＮＡ鎖（アンチセンス鎖）を含む。

【０１０８】

ある特定の実施形態において、本開示のＲＮＡｉ剤は、ＡＢＬＩＭ３遺伝子のｍＲＮＡ転写物の少なくとも一部に対して実質的に相補的である、少なくとも１９の連続するヌクレオチドの領域を有する、より長い長さ、例えば、最大でも６６ヌクレオチドまで、例えば、３６～６６、２６～３６、２５～３６、３１～６０、２２～４３、２７～５３ヌクレオチド長を含むことができる、ＲＮＡ鎖（アンチセンス鎖）を含む。より長い長さのアンチセンス鎖を有するこれらのＲＮＡｉ剤は、好ましくは、２０～６０ヌクレオチド長の第２のＲＮＡ鎖（センス鎖）を含み、この場合、センス鎖およびアンチセンス鎖は、１８～３０の連続するヌクレオチドの二重鎖を形成する。

【０１０９】

これらのＲＮＡｉ剤の使用は、哺乳動物におけるＡＢＬＩＭ３遺伝子のｍＲＮＡの標的化された分解および／または阻害を可能にする。したがって、これらのＲＮＡｉ剤を含む方法および組成物は、ＡＢＬＩＭ３タンパク質のレベルまたは活性の低減が有益であろう対象、例えば、ＰＴＳＤまたは加齢性記憶喪失を有する対象を処置するのに有用である。

【０１１０】

以下の詳細な説明は、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現を阻害するためにＲＮＡｉ剤を含有する組成物を作製および使用する方法、ならびに遺伝子の発現の阻害または低減が有益であろう疾患および障害を有する対象を処置するための組成物および方法を開示する。

【０１１１】

Ｉ．定義

本開示がさらに容易に理解され得るために、ある特定の用語が、最初に定義される。加えて、パラメータの値または値の範囲が列記される場合にはいつでも、列記された値の中間の値および範囲も、本開示の一部であることが意図されることが意図される。

【０１１２】

冠詞「ａ」および「ａｎ」は、本明細書において、冠詞の文法上の対象の１つまたは２つ以上（すなわち、少なくとも一つ）を意味するために使用される。例えば、「要素（ａｎ　ｅｌｅｍｅｎｔ）」は、１つの要素または２つ以上の要素、例えば、複数の要素を意味する。

【０１１３】

用語「を含む（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」は、語句「を含むが、これらに限定されるわけではない（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ　ｂｕｔ　ｎｏｔ　ｌｉｍｉｔｅｄ　ｔｏ）」を意味するために本明細書において使用され、当該語句と相互互換的に使用される。用語「または」は、文脈において明確に示されない限り、用語「および／または」を意味するために本明細書において使用され、当該語句と相互互換的に使用される。

【０１１４】

用語「約」は、当技術分野において、典型的な交差の範囲内であることを意味するために、本明細書において使用される。例えば、「約」は、平均から約２標準偏差として理解することができる。ある特定の実施形態において、約は、±１０％を意味する。ある特定の実施形態において、約は、±５％を意味する。約が、一連の数または範囲の前に存在する場合、「約」は、一連における数または範囲のそれぞれを修飾することができることは理解されよう。

【０１１５】
数または一連の数の前の用語「少なくとも」は、文脈から明白な場合、用語「少なくとも」に隣接する数、および論理的に含まれ得るその後の全ての数または整数を含むと理解される。例えば、核酸分子におけるヌクレオチドの数は、整数でなければならない。例えば、「２１ヌクレオチド核酸分子の少なくとも１８ヌクレオチド」は、１８、１９、２０、または２１ヌクレオチドが、示された特性を有することを意味する。少なくとも、なる用語が、一連の数または範囲の前に存在する場合、「少なくとも」は、一連における数および範囲のそれぞれを修飾することができることは理解されよう。
【０１１６】
本明細書において使用される場合、「以下」または「またはそれ未満」は、当該語句に隣接する値およびそれより論理的に小さい値または整数から、文脈から論理的である場合、ゼロまでとして理解される。例えば、「２ヌクレオチド以下」のオーバーハングを有する二重鎖は、２、１、または０ヌクレオチドのオーバーハングを有する。「以下」が、一連の数または範囲の前に存在する場合、「以下」は、一連における数または範囲のそれぞれを修飾することができることは理解されよう。
【０１１７】
本明細書において使用される場合、検出の方法は、存在する分析物の量が方法の検出レベル未満であることの判定を含むことができる。
【０１１８】
示された標的部位と、センス鎖またはアンチセンス鎖に対するヌクレオチド配列とが一致しない場合、示された配列が優先する。
【０１１９】
化学構造と化学名称が一致しない場合、化学構造が優先する。
【０１２０】
本明細書において使用される場合、用語「ＡＢＬＩＭ３」と相互互換的に使用される、用語「アクチン結合ＬＩＭタンパク質３」は、周知の遺伝子およびその遺伝子にコードされるポリペプチドを指し、当技術分野で「アクチン結合ＬＩＭタンパク質ファミリーメンバー３」、「ＫＩＡＡ０８４３」、および「ＨＭＦＮ１６６１」としても公知である。ＡＢＬＩＭ３遺伝子は、脳で発現し、活性であり、脂肪組織、心臓、胎盤、および肝臓を含めた他の組織でも発現する。ＡＢＬＩＭ３は、歯状回顆粒細胞を含めた中枢神経系のいくつかの細胞でも発現する。ＲＮＡｉ療法は、脳のＡＢＬＩＭ３を特異的に標的化し、それによって末梢副作用を回避することができる。
【０１２１】
ＡＢＬＩＭ３は、近年、歯状回顆粒細胞と透明層介在神ニューロンとの連結性における分子ブレーキとして記憶に関連付けられた［Guo, et al., 2018, Nat Med.24(4):438-449)］。学習の動物モデルを使用して、学習時にＡＢＬＩＭ３のレベルが減少することが示された。この研究から、歯状回顆粒細胞におけるＡＢＬＩＭ３を下方制御すると、遠隔記憶の汎化が減少し、遠隔記憶の精度が増加し、それによって記憶障害およびＰＴＳＤを緩和する助けになり得ることが見出された。
【０１２２】
ＡＢＬＩＭ３の例示的なヌクレオチドおよびアミノ酸配列は、例えば、ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＭ_００１３０１０１５．３［ヒト（Ｈｏｍｏ ｓａｐｉｅｎｓ）ＡＢＬＩＭ３、配列番号１、逆相補物、配列番号２）］；およびＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＭ_００１１６４４９１．１［ハツカネズミ（Ｍｕｓ ｍｕｓｃｕｌｕｓ）ＡＢＬＩＭ３）］に見出すことができる。
【０１２３】
ＡＢＬＩＭ３遺伝子を内包するヒト染色体のゲノム領域のヌクレオチド配列は、例えば、ＧｅｎＢａｎｋで入手可能なＧｅｎｏｍｅ Ｒｅｆｅｒｅｎｃｅ Ｃｏｎｓｏｒｔｉｕｍ Ｈｕｍａｎ Ｂｕｉｌｄ ３８（ヒトゲノムｂｕｉｌｄ３８またはＧＲＣｈ３８とも称される）に見出すことができる。ＡＢＬＩＭ３遺伝子を内包するヒト第５染色体のゲノ

ム領域のヌクレオチド配列はまた、例えば、ヒト第５染色体のヌクレオチド１４９、１４１、１９３～１４、９２６０、５４２に対応する、ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＣ＿０００００５．１０に見出すこともできる。ヒトＡＢＬＩＭ３遺伝子のヌクレオチド配列は、例えば、ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＧ＿０５１５６６．１に見出すことができる。

【０１２４】

ＡＢＬＩＭ３配列のさらなる例は、公共的に利用可能なデータベース、例えば、ＧｅｎＢａｎｋ、ＯＭＩＭ、およびＵｎｉＰｒｏｔに見出すことができる。

【０１２５】

ＡＢＬＩＭ３に関する追加の情報は、例えば、https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/22885に見出すことができる。用語ＡＢＬＩＭ３は、本明細書において使用される場合、臨床変異体データベース、例えば、https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/?term=ABLIM3[gene]に提供される変異体を含めた、ＡＢＬＩＭ３遺伝子のバリエーションも指す。

【０１２６】

先述のＧｅｎＢａｎｋ受託番号およびＧｅｎｅデータベース番号のそれぞれの内容全体は、本出願の出願日において参照により本明細書に組み込まれる。

【０１２７】

本明細書において使用される場合、「標的配列」は、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の転写の際に形成されるｍＲＮＡ分子、例えば、一次転写産物のＲＮＡプロセシングの産物であるｍＲＮＡなどのヌクレオチド配列における連続する一部分を意味する。一実施形態において、配列の標的部分は、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の転写の際に形成されるｍＲＮＡ分子のヌクレオチド配列の一部分またはその付近におけるＲＮＡｉ依存性切断のための基質として機能するのに、少なくとも十分に長いであろう。

【０１２８】

標的配列は、約１５～３０個のヌクレオチドの長さである。例えば、標的配列は、約１５～３０ヌクレオチド長、１５～２９、１５～２８、１５～２７、１５～２６、１５～２５、１５～２４、１５～２３、１５～２２、１５～２１、１５～２０、１５～１９、１５～１８、１５～１７、１８～３０、１８～２９、１８～２８、１８～２７、１８～２６、１８～２５、１８～２４、１８～２３、１８～２２、１８～２１、１８～２０、１９～３０、１９～２９、１９～２８、１９～２７、１９～２６、１９～２５、１９～２４、１９～２３、１９～２２、１９～２１、１９～２０、２０～３０、２０～２９、２０～２８、２０～２７、２０～２６、２０～２５、２０～２４、２０～２３、２０～２２、２０～２１、２１～３０、２１～２９、２１～２８、２１～２７、２１～２６、２１～２５、２１～２４、２１～２３、または２１～２２ヌクレオチド長であり得る。ある特定の実施形態において、標的配列は、１９～２３ヌクレオチド長であり、適宜、２１～２３ヌクレオチド長であってもよい。上記に列記した範囲および長さの中間的な範囲および長さも、本開示の一部であることが想到される。

【０１２９】

本明細書において使用される場合、用語「配列を含む鎖」は、標準的ヌクレオチド用語体系を使用して言及される配列によって説明されるヌクレオチドの鎖を含むオリゴヌクレオチドを意味する。「Ｇ」、「Ｃ」、「Ａ」、「Ｔ」、および「Ｕ」はそれぞれ、一般的に、修飾ヌクレオチドまたは非修飾ヌクレオチドとの関連において、それぞれ塩基としての、グアニン、シトシン、アデニン、チミジン、およびウラシルを含むヌクレオチドを表す。しかしながら、用語「リボヌクレオチド」または「ヌクレオチド」は、以下においてより詳述されるような修飾ヌクレオチド、または代理の置換部分（例えば、表２を参照されたい）も意味することができることは理解されよう。当業者は、グアニン、シトシン、アデニン、チミジン、およびウラシルが、そのような置換部分を有するヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドの塩基対合特性を実質的に変更することなく、他の部分で置き換えることができることを十分に意識している。例えば、これらに限定されるわけではないが、その塩基としてイノシンを含むヌクレオチドは、アデニン、シトシン、またはウラシル

を含むヌクレオチドと塩基対を形成することができる。したがって、ウラシル、グアニン、またはアデニンを含むヌクレオチドは、本開示において特徴とされるｄｓＲＮＡのヌクレオチド配列において、例えばイノシンを含むヌクレオチドで置換することができる。別の例において、オリゴヌクレオチドのいずれかにおけるアデニンおよびシトシンは、標的ｍＲＮＡとＧ－ＵＷｏｂｂｌｅ塩基対合を形成するために、それぞれ、グアニンおよびウラシルで置換することができる。そのような置換部分を含む配列は、本開示において特徴とされる組成物および方法にとって好適である。

【０１３０】

本明細書において相互互換的に使用される、用語「ｉＲＮＡ」、「ＲＮＡｉ剤」、「ｉＲＮＡ剤」、「ＲＮＡ干渉剤」は、本明細書において用語が定義されるＲＮＡを含有し、ＲＮＡ誘導サイレンシング複合体（ＲＩＳＣ）経路を介して、ＲＮＡ転写における標的化された切断を媒介するような、薬剤を意味する。ＲＮＡ干渉（ＲＮＡｉ）は、ｍＲＮＡの配列特異的な分解を指示するプロセスである。ＲＮＡｉは、細胞中で、例えば対象、例えば哺乳類対象内の細胞中で、ＡＢＬＩＭ３の発現をモジュレートする、例えば阻害する。

【０１３１】

一実施形態において、本開示のＲＮＡｉ剤は、標的ＲＮＡの切断を指示するために、標的ＲＮＡ配列、例えば、ＡＢＬＩＭ３標的ｍＲＮＡ配列と相互作用する一本鎖ＲＮＡｉを含む。理論に束縛されることを望むわけではないが、細胞内に導入された長い二本鎖ＲＮＡは、Ｄｉｃｅｒとして知られるＩＩＩ型エンドヌクレアーゼによって、センス鎖およびアンチセンス鎖を含む二本鎖低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）へと分解されると考えられる［Sharp et al. (2001) Genes Dev. 15:485］。リボヌクレアーゼＩＩＩ様酵素であるＤｉｃｅｒは、このｄｓＲＮＡを、特徴的な２つの塩基３’オーバーハングを有する１９～２３塩基対の低分子干渉ＲＮＡへとプロセシングする［Bernstein, et al., (2001) Nature 409:363］。次いで、これらのｓｉＲＮＡは、ＲＮＡ誘導サイレンシング複合体（ＲＩＳＣ）へと導入され、この場合、１つまたは複数のヘリカーゼが、ｓｉＲＮＡ二重鎖を解き、相補的アンチセンス鎖が標的認識を誘導することを可能にする［Nykanen, et al., (2001) Cell 107:309］。適切な標的ｍＲＮＡへの結合の際に、ＲＩＳＣ内の１つまたは複数のエンドヌクレアーゼは、サイレンシングを誘導するために、標的を切断する［Elbashir, et al., (2001) Genes Dev. 15:188］。したがって、一態様では、本開示は、細胞内において生成され、ＲＩＳＣ複合体の形成を促進し、それにより標的遺伝子、すなわちＡＢＬＩＭ３遺伝子のサイレンシングを行う、一本鎖ＲＮＡ（ｓｓＲＮＡ）（ｓｉＲＮＡ二重鎖のアンチセンス鎖）に関する。したがって、用語「ｓｉＲＮＡ」は、上記において説明されたＲＮＡｉも意味するために本明細書において使用される。

【０１３２】

別の実施形態において、ＲＮＡｉ剤は、標的ｍＲＮＡを阻害するために細胞または有機体に導入された一本鎖ＲＮＡであり得る。一本鎖ＲＮＡｉ剤は、ＲＩＳＣエンドヌクレアーゼであるアルゴノート２に結合し、次いで、標的ｍＲＮＡを切断する。一本鎖ｓｉＲＮＡは、概して、１５～３０ヌクレオチドであり、化学的に修飾される。一本鎖ＲＮＡの設計および試験は、米国特許第８，１０１，３４８号およびLima et al., (2012) Cell 150:883-894に記載されており、そのそれぞれの内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。本明細書において説明されるアンチセンスヌクレオチド配列はいずれも、本明細書において説明される一本鎖ｓｉＲＮＡとして、またはLima et al., (2012) Cell 150:883-894に記載される方法によって化学的に修飾される一本鎖ｓｉＲＮＡとして使用され得る。

【０１３３】

別の実施形態において、本開示の組成物および方法における使用のための「ＲＮＡｉ剤」は、二本鎖ＲＮＡであり、本明細書において「二本鎖ＲＮＡｉ剤」、「二本鎖ＲＮＡ（ｄｓＲＮＡ）分子」、「ｄｓＲＮＡ剤」、または「ｄｓＲＮＡ」と呼ばれる。用語「ｄｓＲＮＡ」は、標的ＲＮＡ、すなわち、ＡＢＬＩＭ３遺伝子に関して「センス」または「ア

ンチセンス」配向を有すると言われる、２本の逆平行の実質的に相補的な核酸鎖を含む二重鎖構造を有するリボ核酸分子の複合体を意味する。本開示の一部の実施形態において、二本鎖ＲＮＡ（ｄｓＲＮＡ）は、本明細書においてＲＮＡ干渉またはＲＮＡｉと呼ばれる転写後遺伝子サイレンシングメカニズムによって、標的ＲＮＡ、例えば、ｍＲＮＡの分解を誘導する。

【０１３４】

概して、ｄｓＲＮＡ分子は、リボヌクレオチドを含むことができるが、本明細書において詳細に説明されるように、それぞれの鎖または両方の鎖は、１つまたは複数のリボヌクレオチド、例えば、デオキシリボヌクレオチド、修飾ヌクレオチド、も含むことができる。加えて、本明細書において使用される場合、「ＲＮＡｉ剤」は、化学修飾を有するリボヌクレオチドを含み得；ＲＮＡｉ剤は、複数のヌクレオチドにおける実質的な修飾を含み得る。本明細書において使用される場合、用語「修飾ヌクレオチド」は、修飾糖部分、修飾ヌクレオチド間連結、または修飾核酸塩基を独立して有するヌクレオチドを意味する。したがって、修飾ヌクレオチドなる用語は、ヌクレオシド間連結、糖部分、または核酸塩基への、例えば、官能基または原子などの置換、付加、または除去を包含する。本開示の薬剤における使用にとって好適な修飾は、本明細書に開示される修飾または当技術分野で公知の修飾の全てのタイプを包含する。ｓｉＲＮＡタイプの分子において使用される、任意のそのような修飾は、本明細書および特許請求の範囲の目的のために「ＲＮＡｉ剤」によって包含される。

【０１３５】

本開示のある特定の実施形態において、ＲＮＡｉ剤内に存在する場合、デオキシヌクレオチドの包含は、修飾ヌクレオチドを構成するとみなすことができる。

【０１３６】

二重鎖領域は、ＲＩＳＣ経路による所望の標的ＲＮＡの特異的分解を可能にする任意の長さであり得、ならびに約１５～３６塩基対の長さ、例えば、約１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、または３６塩基対の長さ、例えば、約１５～３０、１５～２９、１５～２８、１５～２７、１５～２６、１５～２５、１５～２４、１５～２３、１５～２２、１５～２１、１５～２０、１５～１９、１５～１８、１５～１７、１８～３０、１８～２９、１８～２８、１８～２７、１８～２６、１８～２５、１８～２４、１８～２３、１８～２２、１８～２１、１８～２０、１９～３０、１９～２９、１９～２８、１９～２７、１９～２６、１９～２５、１９～２４、１９～２３、１９～２２、１９～２１、１９～２０、２０～３０、２０～２９、２０～２８、２０～２７、２０～２６、２０～２５、２０～２４、２０～２３、２０～２２、２０～２１、２１～３０、２１～２９、２１～２８、２１～２７、２１～２６、２１～２５、２１～２４、２１～２３、または２１～２２の塩基対の長さに及び得る。ある特定の実施形態において、二重鎖領域は、１９～２１塩基対の長さ、例えば、２１塩基対の長さである。上記に列記した範囲および長さの中間的な範囲および長さも、本開示の一部であることが想到される。

【０１３７】

二重鎖構造を形成する２つの鎖は、１つのより大きなＲＮＡ分子における異なる一部分であり得るか、またはそれらは、別々のＲＮＡ分子であり得る。２つの鎖が、１つのより大きい分子の一部であり、それらが、二重鎖構造を形成する一方の鎖の３’端とそれぞれの他方の鎖の５’端との間の中断されていないヌクレオチドの鎖によって接続され得る場合、その接続するＲＮＡ鎖は、「ヘアピンループ」と呼ばれる。ヘアピンループは、少なくとも１つの無対のヌクレオチドを含むことができる。一部の実施形態において、ヘアピンループは、少なくとも４、少なくとも５、少なくとも６、少なくとも７、少なくとも８、少なくとも９、少なくとも１０、少なくとも２０、少なくとも２３またはそれ以上の無対のヌクレオチドまたはｄｓＲＮＡの標的部位を対象としないヌクレオチドを含むことができる。一部の実施形態において、ヘアピンループは、１０以下のヌクレオチドであり得る。一部の実施形態において、ヘアピンループは、８以下の無対のヌクレオチドであり得

る。一部の実施形態において、ヘアピンループは、４～１０の無対のヌクレオチドであり得る。一部の実施形態において、ヘアピンループは、４～８の無対のヌクレオチドであり得る。

【０１３８】

ｄｓＲＮＡの２つの実質的に相補的な鎖は、別々のＲＮＡ分子に含まれ、それらの分子は、必ずしも必要ではないが、共有結合することができる。２つの鎖が、１つの鎖の３’端と、二重鎖構造を形成するそれぞれ他の鎖の５’端との間において、割り込まれないヌクレオチドの鎖以外の手段によって共有結合される、ある特定の実施形態において、接続構造は、「リンカー」と呼ばれる（本明細書の他の箇所において定義されるある特定の他の構造も「リンカー」と呼ばれ得るが）。ＲＮＡ鎖は、同じまたは異なる数のヌクレオチドを有し得る。塩基対の最大数は、ｄｓＲＮＡの最も短い鎖におけるヌクレオチドの数から二重鎖に存在する全てのオーバーハングを引いた数である。二重鎖構造に加えて、ＲＮＡｉは、１つまたは複数のヌクレオチドオーバーハングを含み得る。ＲＮＡｉ剤の一実施形態において、少なくとも１つの鎖は、少なくとも１ヌクレオチドの３’オーバーハングを含む。別の実施形態において、少なくとも１つの鎖は、少なくとも２ヌクレオチド、例えば、２、３、４、５、６、７、９、１０、１１、１２、１３、１４、または１５ヌクレオチドの３’オーバーハングを含む。他の実施形態において、ＲＮＡｉ剤の少なくとも１つの鎖は、少なくとも１ヌクレオチドの５’オーバーハングを含む。ある特定の実施形態において、少なくとも１つの鎖は、少なくとも２ヌクレオチド、例えば、２、３、４、５、６、７、９、１０、１１、１２、１３、１４、または１５ヌクレオチドの５’オーバーハングを含む。さらなる他の実施形態において、ＲＮＡｉ剤の１つの鎖の３’および５’端の両方は、少なくとも１ヌクレオチドのオーバーハングを含む。

【０１３９】

一実施形態において、本開示のＲＮＡｉ剤は、ｄｓＲＮＡであり、その各鎖は、独立して、標的ＲＮＡの切断を誘導するために、標的ＲＮＡ配列、例えば、ＡＢＬＩＭ３標的ｍＲＮＡ配列と相互作用する１９～２３ヌクレオチドを含む。

【０１４０】

一部の実施形態において、本発明のｉＲＮＡは、標的ＲＮＡ配列、例えば、ＡＢＬＩＭ３標的化ｍＲＮＡ配列と相互作用して標的ＲＮＡの切断を指示する２４～３０ヌクレオチドのｄｓＲＮＡである。

【０１４１】

本明細書において使用される場合、用語「ヌクレオチドオーバーハング」は、ＲＮＡｉ剤、例えばｄｓＲＮＡの二重鎖構造から突出する少なくとも１つの無対のヌクレオチドを意味する。例えば、ｄｓＲＮＡの一方の鎖の３’端が、他方の鎖の５’端を越えて延びる場合、その逆の場合も同様に、ヌクレオチドオーバーハングが存在する。ｄｓＲＮＡは、少なくとも１つのヌクレオチドのオーバーハングを含むことができ；あるいは、オーバーハングは、少なくとも２つのヌクレオチド、少なくとも３つのヌクレオチド、少なくとも４つのヌクレオチド、少なくとも５つのヌクレオチド、またはそれ以上のヌクレオチドを含むことができる。ヌクレオチドオーバーハングは、デオキシヌクレオチド／ヌクレオシドなどのヌクレオチド／ヌクレオシドアナログを含み得、またはそれらからなり得る。オーバーハングは、センス鎖、アンチセンス鎖、またはそれらの任意の組合せの上にあり得る。その上、オーバーハングのヌクレオチドは、ｄｓＲＮＡのアンチセンス鎖またはセンス鎖のどちらかの５’端、３’端、またはその両方に存在し得る。

【０１４２】

一実施形態において、ｄｓＲＮＡのアンチセンス鎖は、３’端または５’端に１～１０ヌクレオチドオーバーハング、例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０ヌクレオチドのオーバーハングを有する。一実施形態において、ｄｓＲＮＡのセンス鎖は、３’端または５’端に１～１０ヌクレオチド、例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０ヌクレオチドのオーバーハングを有する。別の実施形態において、オーバーハングにおけるヌクレオチドの１つまたは複数は、ヌクレオシドチオホスフェートで

置き換えられる。
【０１４３】
ある特定の実施形態において、ｄｓＲＮＡのアンチセンス鎖は、３’端または５’端に１～１０ヌクレオチド、例えば、０～３、１～３、２～４、２～５、４～１０、５～１０、例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０ヌクレオチドのオーバーハングを有する。一実施形態において、ｄｓＲＮＡのセンス鎖は、３’端または５’端に１～１０ヌクレオチド、例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０ヌクレオチドのオーバーハングを有する。別の実施形態において、オーバーハングにおけるヌクレオチドの１つまたは複数は、ヌクレオシドチオホスフェートで置き換えられる。
【０１４４】
ある特定の実施形態において、ｄｓＲＮＡのアンチセンス鎖は、３’端に１～１５ヌクレオチド、例えば、０～３、１～３、２～４、２～５、４～１０、５～１０、６～１２、または、例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、もしくは１５ヌクレオチドのオーバーハングを有する。別の実施形態において、オーバーハングにおけるヌクレオチドの１つまたは複数は、ヌクレオシドチオホスフェートで置き換えられる。
【０１４５】
ある特定の実施形態において、センス鎖またはアンチセンス鎖におけるオーバーハングは、１０または１５ヌクレオチドより長い、例えば、１～３０ヌクレオチド長、２～３０ヌクレオチド長、１０～３０ヌクレオチド長、または１０～１５ヌクレオチド長の、伸長された長さを含み得る。ある特定の実施形態において、伸長されたオーバーハングは、二重鎖のセンス鎖にある。ある特定の実施形態において、伸長されたオーバーハングは、二重鎖のセンス鎖の３’端に存在する。ある特定の実施形態において、伸長されたオーバーハングは、二重鎖のセンス鎖の５’端に存在する。ある特定の実施形態において、伸長されたオーバーハングは、二重鎖のアンチセンス鎖にある。ある特定の実施形態において、伸長されたオーバーハングは、二重鎖のアンチセンス鎖の３’端に存在する。ある特定の実施形態において、伸長されたオーバーハングは、二重鎖のアンチセンス鎖の５’端に存在する。ある特定の実施形態において、オーバーハングにおけるヌクレオチドの１つまたは複数は、ヌクレオシドチオホスフェートで置き換えられる。ある特定の実施形態において、オーバーハングは、オーバーハングが、生理学的条件下において安定なヘアピン構造を形成することができるような自己相補性部分を含む。
【０１４６】
用語「ブラント（ｂｌｕｎｔ）」または「ブラントエンド（ｂｌｕｎｔ　ｅｎｄｅｄ）」は、ｄｓＲＮＡに関して本明細書において使用される場合、ｄｓＲＮＡの所定の末端において無対ヌクレオチドまたはヌクレオチドアナログが存在しない、すなわち、ヌクレオチドオーバーハングが存在しないことを意味する。ｄｓＲＮＡの片端または両端は、ブラントであり得る。ｄｓＲＮＡの両端がブラントである場合、ｄｓＲＮＡは、ブラントエンドであると言われる。明瞭化のため、「ブラントエンド」ｄｓＲＮＡは、両端がブラントであるｄｓＲＮＡ、すなわち、分子のどちらの末端にもヌクレオチドオーバーハングが存在しないｄｓＲＮＡである。ほとんどの場合、そのような分子は、その全長にわたって二本鎖であろう。
【０１４７】
用語「アンチセンス鎖」または「ガイド鎖」は、標的配列、例えば、ＡＢＬＩＭ３　ｍＲＮＡに対して実質的に相補的な領域を含む、ＲＮＡｉ剤、例えば、ｄｓＲＮＡの鎖を意味する。
【０１４８】
本明細書において使用される場合、用語「相補性の領域」は、本明細書において定義されるように、配列、例えば、標的配列、例えば、ＡＢＬＩＭ３ヌクレオチド配列に対して実質的に相補的であるアンチセンス鎖上の領域を意味する。相補性の領域が、標的配列に対して完全には相補的でない場合、そのミスマッチは、分子の内部領域または末端領域に

おいてであり得る。一般に、最も許容できるミスマッチは、末端領域、例えば、ＲＮＡｉ剤の５’末端または３’末端の５、４、３、または２ヌクレオチド以内においてである。一部の実施形態において、本発明の二本鎖ＲＮＡ剤は、アンチセンス鎖におけるヌクレオチドミスマッチを含む。一部の実施形態において、本発明の二本鎖ＲＮＡ剤のアンチセンス鎖は、標的ｍＲＮＡとの４つ以下のミスマッチを含み、例えば、アンチセンス鎖は、標的ｍＲＮＡとの４つ、３つ、２つ、１つ、または０のミスマッチを含む。一部の実施形態において、本発明の二本鎖ＲＮＡ剤のアンチセンス鎖は、センス鎖との４つ以下のミスマッチを含み、例えば、アンチセンス鎖は、センス鎖との４つ、３つ、２つ、１つ、または０のミスマッチを含む。一部の実施形態において、本発明の二本鎖ＲＮＡ剤は、センス鎖におけるヌクレオチドミスマッチを含む。一部の実施形態において、本発明の二本鎖ＲＮＡ剤のセンス鎖は、アンチセンス鎖との４つ以下のミスマッチを含み、例えば、センス鎖は、アンチセンス鎖との４つ、３つ、２つ、１つ、または０のミスマッチを含む。一部の実施形態において、ヌクレオチドミスマッチは、例えば、ｉＲＮＡの３’端から５、４、３ヌクレオチド以内である。別の実施形態において、ヌクレオチドミスマッチは、例えば、ｉＲＮＡ剤の３’末端ヌクレオチドにおいてである。一部の実施形態において、ミスマッチは、シード領域にはない。

【０１４９】

したがって、本明細書において説明されるＲＮＡｉ剤は、標的配列に対する１つまたは複数のミスマッチを含むことができる。一実施形態において、本明細書において説明されるＲＮＡｉ剤は、３つ以下のミスマッチ（すなわち、３つ、２つ、１つ、または０のミスマッチ）を含む。一実施形態において、本明細書において説明されるＲＮＡｉ剤は、２つ以下のミスマッチを含む。一実施形態において、本明細書において説明されるＲＮＡｉ剤は、１つ以下のミスマッチを含む。一実施形態において、本明細書において説明されるＲＮＡｉ剤は、０のミスマッチを含む。ある特定の実施形態において、ＲＮＡｉ剤のアンチセンス鎖が、標的配列に対してミスマッチを含む場合、ミスマッチは、適宜、相補性の領域の５’端または３’端から最後の５ヌクレオチド以内に制限することができる。例えば、そのような実施形態において、２３ヌクレオチドのＲＮＡｉ剤の場合、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の領域に対して相補的な鎖は、概して、中央の１３ヌクレオチド以内にいかなるミスマッチも含まない。本明細書に記載される方法または当技術分野で公知の方法を使用することにより、標的配列に対するミスマッチを含有するＲＮＡｉ剤が、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現の阻害において有効であるか否かを判定することができる。例えば、Jackson et al.（Nat. Biotechnol. 2003;21: 635-637）は、ＭＡＰＫ１４　ｓｉＲＮＡに対して１２～１８ｎｔのセンス鎖のみで配列同一性を有する小さい遺伝子セットの発現がＭＡＰＫ１４と同様の動態で下方制御された発現プロファイル研究について記載している。同様に、Lin et al.,（Nucleic Acids Res. 2005; 33(14): 4527-4535）は、ｑＰＣＲおよびレポーターのアッセイを使用して、ｓｉＲＮＡと標的の間に７ｎｔの相補性があれば標的のｍＲＮＡ分解を引き起こすのに十分であることを示した。とりわけ、ＡＢＬＩＭ３遺伝子における相補性の特定の領域が、集団内での多形配列バリエーションを有することが知られている場合、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現を阻害するミスマッチを有するＲＮＡｉ剤の有効性を考慮することは重要である。

【０１５０】

ＲＮＡ標的は、標的ＲＮＡのヌクレオチド配列の領域または区間を有してもよく、これは、その領域へのＲＮＡｉ剤の結合によって誘導されるＲＮＡ干渉を介するＲＮＡ標的の媒介切断に対して、ＲＮＡ標的の他の領域より比較的感受性が高いか、または受け入れ易い。そのような「ホットスポット領域」（または簡単に「ホットスポット」）内でＲＮＡ干渉に対する感受性が高いということは、その領域を標的化するｉＲＮＡ剤は、その標的ＲＮＡの他の領域を標的化するｉＲＮＡ剤よりｉＲＮＡ干渉の誘導における有効性がおそらく高いことを意味する。例えば、理論によって束縛されるものではないが、標的ＲＮＡの標的領域へのアクセスし易さは、その領域を標的化するｉＲＮＡ剤の有効性に影響を及ぼし得るが、いくつかのホットスポット領域は高いアクセスし易さを有する。二次構造、

例えば、ＲＮＡ標的内に形成されるもの（例えば、ホットスポット領域内またはその近傍）は、標的領域に結合し、ＲＮＡ干渉を誘導するｉＲＮＡ剤の能力に影響を与え得る。

【０１５１】

本発明のある特定の態様によれば、ｉＲＮＡ剤は、標的ＲＮＡのいずれかの特定された部分（例えば、特定のエクソン）を含めた、本明細書において説明される標的ＲＮＡのいずれかのホットスポット領域を標的化するように設計されてもよい。本明細書において使用される場合、ホットスポット領域は、ＲＮＡｉ剤を使用する標的化が、同じ標的ＲＮＡの他の領域の標的化と比較して、観測可能に高い確率の効果的サイレンシングをもたらす、標的ＲＮＡ配列のおよそ１９～２００、１９～１５０、１９～１００、１９～７５、１９～５０、２１～２００、２１～１５０、２１～１００、２１～７５、２１～５０、５０～２００、５０～１５０、５０～１００、５０～７５、７５～２００、７５～１５０、７５～１００、１００～２００、または１００～１５０ヌクレオチドの領域を指してもよい。本発明のある特定の態様によれば、ホットスポット領域は、例えば、標的ＲＮＡの長さの半分未満、例えば、標的ＲＮＡの長さの約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、または３０％を含めた、標的ＲＮＡの限定された領域、一部の場合には、その標的の実質的に限定された領域を含んでもよい。逆に、ホットスポットに対して比較される他の領域は、標的ＲＮＡの長さの少なくとも大部分を累積的に含んでもよい。例えば、他の領域は、標的ＲＮＡの長さの少なくとも約６０％、または少なくとも約７０％、または少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％、または少なくとも約９５％を累積的に含んでもよい。

【０１５２】

標的ＲＮＡの比較領域は、インビトロまたはインビボでのスクリーニングアッセイから得られた有効性データを使用して、ホットスポットの特定について経験的に評価されてもよい。例えば、標的ＲＮＡにわたる種々の領域を標的化するＲＮＡｉ剤は、各領域に結合する効果的なｉＲＮＡ剤の度数（例えば、ｍＲＮＡ発現またはタンパク質発現によって測定されるものなどの、それによって標的遺伝子の発現が阻害される量）について比較されてもよい。一般に、ホットスポットは、ＲＮＡ標的の限定された領域に結合する複数の効果的なＲＮＡｉ剤のクラスタリングを観察することによって認識することができる。ホットスポットは、ホットスポットとして特定される標的領域の少なくとも約６０％、例えば、その領域の両端を含むその領域の長さの約７０％、約８０％、約９０％、もしくは約９５％、またはそれ以上に累積的にわたるｉＲＮＡ剤の有効性（すなわち、その領域の各端のヌクレオチドを含む、その領域内のヌクレオチドの少なくとも約６０％、７０％、８０％、９０％、もしくは約９５％、またはそれ以上が、ｉＲＮＡ剤によって標的化されたこと）を観察することによって、十分にそのようなものとして特徴付けることができる。本発明の一部の態様によれば、その領域にわたる少なくとも約５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、または９５％の阻害（例えば、約５０％、４５％、４０％、３５％、３０％、２５％、２０％、１５％、１０％、または５％以下のｍＲＮＡの残存）を実証するｉＲＮＡ剤は、効果的であると特定することができる。

【０１５３】

標的化に対するＲＮＡ領域の受け入れ易さはまた、所定の大きさ（例えば、２５、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、または１００、１１０、１２０、１３０、１４０、１５０、１６０、１７０、１８０、１９０、または２００ｎｔ）の異なる領域にわたる阻害測定値の定量的比較を使用して評価されてもよい。例えば、阻害の平均レベルが各領域について決定されてもよく、各領域の平均値が比較されてもよい。ホットスポット領域内の阻害の平均レベルは、評価された領域全ての平均値の平均より実質的に高くなり得る。一部の態様によれば、ホットスポット領域内の阻害の平均レベルは、平均値の平均より少なくとも約１０％、２０％、３０％、４０％、または５０％高くなり得る。一部の態様によれば、ホットスポット領域内の阻害の平均レベルは、平均値の平均より少なくとも約１．０、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５　１．６、１．７、１．８．１．９、または２．０標準偏差、上であり得る。阻害の平均レベルは、統計的に有意な（例えば

、ｐ＜０．０５）量、高くなり得る。一部の態様によれば、ホットスポット領域内の各阻害測定値は、閾値量より上（例えば、残存するｍＲＮＡの閾値量以下）であり得る。一部の態様によれば、その領域内の各阻害測定値は、測定された領域全てにわたる阻害測定値全ての平均より実質的に高くなり得る。例えば、ホットスポット領域内の各阻害測定値は、阻害測定値全ての平均より少なくとも約１０％、２０％、３０％、４０％、または５０％高くなり得る。一部の態様によれば、各阻害測定値は、阻害測定値全ての平均より少なくとも約１．０、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５　１．６、１．７、１．８．１．９、または２．０標準偏差、上であり得る。各阻害測定値は、阻害測定値全ての平均より統計的に有意な（例えば、ｐ＜０．０５）量、高くなり得る。ホットスポットを評価するための標準は、適合する場合、上の標準の種々の組合せを含んでもよい（例えば、少なくとも約第１の量の阻害の平均レベルであり、第１の量より低い第２の量の閾値レベルより下の阻害測定値を有さない)。

【０１５４】

したがって、標的ＲＮＡのホットスポット領域を標的化する、本明細書において説明される特定の例示的なｉＲＮＡ剤を含めた任意のｉＲＮＡ剤は、そのようなホットスポット領域の標的化がホットスポット領域ではない領域の標的化と比較して堅牢な阻害応答を示す可能性が高いため、標的ｍＲＮＡのＲＮＡ干渉の誘導に好ましく選択することができることが明示的に企図される。実質的に重複する（例えば、標的配列の長さの少なくとも約７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％）、または好ましくはホットスポット領域内に完全に存在する標的配列を標的化するＲＮＡｉ剤は、ホットスポット領域を標的化するとみなすことができる。本発明のＲＮＡ標的（複数可）のホットスポット領域は、そのようなホットスポット領域の範囲（複数可）が明示的に特定されている否かにかかわらず、本明細書に開示されるデータが、効果的なＲＮＡｉ剤による標的化の度数がより高いことを実証する（例えば、本明細書の他の箇所に説明される標準のいずれかによって）任意の領域を含み得る。

【０１５５】

種々の実施形態において、本発明のｄｓＲＮＡ剤は、ＡＢＬＩＭ３をコードするｍＲＮＡのホットスポット領域を標的化する。一実施形態において、ホットスポット領域は、配列番号１のヌクレオチド３０４２～３０８１、３４２０～３４５７、４２２３～４２６１、７２６～７６３、１０８０～１１３７、１３４２～１３７９、１９１０～１９５５、２１６７～２２０４、４８０～５２０、１０８０～１１２２、１６２２～１６６５、１７４４～１７８７、２３２３～２３６３、５４０～５７８、１１７５～１２１２、２７４～３１３、３４９～４０１、または２５１８～２５５５を含む。ｄｓＲＮＡ剤は、ＡＤ－１８０９７０２、ＡＤ－１８０９７１９、ＡＤ－１８１００３８、ＡＤ－１８１００５３、ＡＤ－１８１０６７６、ＡＤ－１８１０６９２、ＡＤ－１８０７９０４、ＡＤ－１８０７９１９、ＡＤ－１８０８２３８、ＡＤ－１８０８２５８、ＡＤ－１８０８２７３、ＡＤ－１８０８４１８、ＡＤ－１８０８４３３、ＡＤ－１８０８８４２、ＡＤ－１８０８８６５、ＡＤ－１８０９０５１、ＡＤ－１８０９０６６、ＡＤ－１８０７７０７、ＡＤ－１８０７７２５、ＡＤ－１８０８６２８、ＡＤ－１８０８６４９、ＡＤ－１８０８７２７、ＡＤ－１８０８７４８、ＡＤ－１８０９１８７、ＡＤ－１８０９２０５、ＡＤ－１８０７７６４、ＡＤ－１８０７７８０、ＡＤ－１８０８３１２、ＡＤ－１８０８３２７、ＡＤ－１８０７５６１、ＡＤ－１８０７５７８、ＡＤ－１８０７６１６、ＡＤ－１８０７６３１、ＡＤ－１８０７６４６、ＡＤ－１８０９３５４、およびＡＤ－１８０９３６９からなる群から選択されてもよい。

【０１５６】

「ヌクレオチドの実質的に全てが修飾されている」は、本明細書において使用される場合、全部ではないが大部分が修飾されていることであり、例としては、５、４、３、２、または１個以下の修飾されていないヌクレオチドが挙げられる。

【０１５７】

用語「センス鎖」または「パッセンジャー鎖」は、本明細書において使用される場合、

用語が本明細書において定義されるようなアンチセンス鎖の領域に対して実質的に相補的である領域を含むＲＮＡｉ剤の鎖を意味する。

【０１５８】

本明細書において使用される場合、用語「切断領域」は、切断部位に直接隣接して位置される領域を意味する。切断部位は、切断が生じる標的上の部位である。一部の実施形態において、切断領域は、切断部位のどちらかの末端において直接隣接している３つの塩基を含む。一部の実施形態において、切断領域は、切断部位のどちらかの末端において直接隣接している２つの塩基を含む。一部の実施形態において、詳細には、切断部位は、アンチセンス鎖のヌクレオチド１０および１１によって結合される部位において生じ、切断領域は、ヌクレオチド１１、１２、および１３を含む。

【０１５９】

本明細書において使用される場合、特に明記されない限り、用語「相補的」は、当業者によって理解されるように、第２のヌクレオチド配列との関連において第１のヌクレオチド配列を説明するために使用される場合、ある特定の条件下において、第２のヌクレオチド配列を含むオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドとハイブリダイズして二重鎖を形成する第１のヌクレオチド配列を含むオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドの能力を意味する。このような条件は、例えば、「ストリンジェントな条件」であってもよく、そのような条件としては、４００ｍＭのＮａＣｌ、４０ｍＭのＰＩＰＥＳ　ｐＨ６．４、１ｍＭのＥＤＴＡ、５０℃または７０℃で１２～１６時間、それに続き洗浄することが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。（例えば、"Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Sambrook, et al. (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Pressを参照）。本明細書において使用される場合、「ストリンジェントな条件」または「ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件」は、その条件下においてアンチセンス化合物はその標的配列にハイブリダイズするが、他の配列には最小限の数である条件を指す。ストリンジェントな条件は配列依存性であり、異なる状況では異なることとなり、アンチセンス化合物が標的配列にハイブリダイズする「ストリンジェントな条件」は、アンチセンス化合物の性質および組成、ならびにそれらが調査されているアッセイによって決定される。他の条件、例えば生物の内部で遭遇し得るような生理的に適切な条件も適用することができる。当業者は、ハイブリダイズしたヌクレオチドの最終的な適用に従って２つの配列の相補性の試験に最も適切な条件のセットを決定することができるであろう。

【０１６０】

ＲＮＡｉ剤内、例えば、本明細書において説明されるｄｓＲＮＡ内の相補配列は、一方または両方のヌクレオチド配列の全長にわたっての、第２のヌクレオチド配列を含むオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドに対する第１のヌクレオチド配列を含むオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドの塩基対合を含む。そのような配列は、本明細書において、お互いに関して「完全に相補的」であると呼ぶことができる。しかしながら、本明細書において、第１の配列が、第２の配列に対して「実質的に相補的」であるとみなされる場合、２つの配列は、完全に相補的であり得るか、またはそれらは、３０までの塩基対の二重鎖の場合、ハイブリダイゼーションの際に１つまたは複数、しかし、概して、５、４、３、または２以下のミスマッチの塩基対を形成し得る。一部の実施形態において、本明細書に開示される「実質的に相補的な」配列は、標的ＡＢＬＩＭ３配列の同等の領域に対してその全長にわたり少なくとも約８０％、例えば、約８５％、約９０％、約９１％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、約９６％、約９７％、約９８％、または約９９％相補的である、連続するヌクレオチド配列を含む。しかしながら、２つのオリゴヌクレオチドが、ハイブリダイゼーションの際に１つまたは複数の一本鎖オーバーハングを形成するように設計される場合、そのようなオーバーハングは、相補性の判定に関して、ミスマッチとはみなされない。例えば、２１ヌクレオチド長の１つのオリゴヌクレオチドと２３ヌクレオチド長の別のオリゴヌクレオチドとを含むｄｓＲＮＡであって、より長いオリゴヌクレオチドが、より短いオリゴヌクレオチドに対して完全に相補的である２１ヌク

レオチドの配列を含むようなｄｓＲＮＡは、依然として、本明細書において説明される目的に対して、「完全に相補的」とみなすことができる。

【０１６１】

「相補的」配列は、本明細書において使用される場合、ハイブリダイズするそれらの能力に関する上記の要件が満たされる限り、非ワトソン・クリック塩基対、または非天然の修飾ヌクレオチドから形成された塩基対も含み得るか、またはそれらから完全に形成され得る。そのような非ワトソン・クリック塩基対としては、これらに限定されるわけではないが、Ｇ：Ｕゆらぎまたはフーグスティーン塩基対合が挙げられる。

【０１６２】

用語「相補的」、「完全に相補的」、および「実質的に相補的」は、本明細書において、それらの使用との関連から理解されるように、ｄｓＲＮＡのセンス鎖とアンチセンス鎖との間、またはＲＮＡｉ剤のアンチセンス鎖と標的配列との間などの、２つのオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチド間の塩基マッチングに関連して使用することができる。

【０１６３】

本明細書において使用される場合、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）「の少なくとも一部に対して実質的に相補的」であるポリヌクレオチドは、目的のｍＲＮＡ（例えば、ＡＢＬＩＭ３をコードするｍＲＮＡ）の連続部分に対して実質的に相補的であるポリヌクレオチドを意味する。例えば、ポリヌクレオチドは、配列が、ＡＢＬＩＭ３をコードするｍＲＮＡの割り込みされていない部分に対して実質的に相補的である場合、ＡＢＬＩＭ３ｍＲＮＡの少なくとも一部に対して相補的である。

【０１６４】

したがって、一部の実施形態において、本明細書に開示されるアンチセンスポリヌクレオチドは、標的ＡＢＬＩＭ３配列に対して完全に相補的である。他の実施形態において、本明細書に開示されるアンチセンスポリヌクレオチドは、標的ＡＢＬＩＭ３配列に対して実質的に相補的であり、配列番号１、または配列番号１、３、５、および７のいずれか１つの断片のヌクレオチド配列の同等の領域に対してその全長にわたり少なくとも８０％、例えば、約８５％、約９０％、約９１％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、約９６％、約９７％、約９８％、または約９９％相補的である、連続するヌクレオチド配列を含む。

【０１６５】

一部の実施形態において、本明細書に開示されるアンチセンスポリヌクレオチドは、標的ＡＢＬＩＭ３配列の断片に対して実質的に相補的であり、配列番号１のヌクレオチド８０～１０２、１３２～１５４、２３０～２５２、２７４～２９６、２９１～３１３、３２４～３４６、３４９～３７１、３６４～３８６、３７９～４０１、４１２～４３４、４８０～５０２、４９８～５２０、５４０～５６２、５５６～５７８、５８０～６０２、６２０～６４２、６７２～６９４、６９０～７１２、７１１～７３３、７２６～７４８、７４１～７６３、７７７～７９９、８８５～９０７、９４０～９６２、９８１～１００３、９９９～１０２１、１０８０～１１０２、１１００～１１２２、１１１５～１１３７、１１７５～１１９７、１１９０～１２１２、１２４０～１２６２、１２６７～１２８９、１３１１～１３３３、１３４２～１３６４、１３５７～１３７９、１３７２～１３９４、１４０６～１４２８、１４３５～１４５７、１５４８～１５７０、１５９２～１６１４、１６２２～１６４４、１６４３～１６６５、１６７２～１６９４、１７１３～１７３５、１７４４～１７６６、１７６５～１７８７、１８１０～１８３２、１８５７～１８７９、１８８２～１９０４、１９１０～１９３２、１９３３～１９５５、１９６９～１９９１、２０３７～２０５９、２０９４～２１１６、２１２５～２１４７、２１６７～２１８９、２１８２～２２０４、２２１６～２２３８、２２４３～２２６５、２２７１～２２９３、２３２３～２３４５、２３４１～２３６３、２３８３～２４０５、２４２０～２４４２、２４５７～２４７９、２４８１～２５０３、２５１８～２５４０、２５３３～２５５５、２５５９～２５８１、２５８３～２６０５、２６６５～２６８７、２７０１～２７２３、２７２７～２７４９、２７６２～２７８４、２７８６～２８０８、２８２８～２８５０、２８

５９～２８８１、２８８３～２９０５、２９３５～２９５７、２９５６～２９７８、２９７２～２９９４、３００９～３０３１、３０４２～３０６４、３０５９～３０８１、３０７７～３０９９、３１０８～３１３０、３１４４～３１６６、３２０１～３２２３、３２１８～３２４０、３２７７～３２９９、３３０１～３３２３、３３１９～３３４１、３３３６～３３５８、３３８６～３４０８、３４０５～３４２７、３４２０～３４４２、３４３５～３４５７、３４５０～３４７２、３５３０～３５５２、３５４６～３５６８、３５７７～３５９９、３５９２～３６１４、３６２４～３６４６、３６４２～３６６４、３６８０～３７０２、３７０４～３７２６、３７１９～３７４１、３７４４～３７６６、３７６１～３７８３、３７９４～３８１６、３８１２～３８３４、３８４７～３８６９、３８６４～３８８６、３８９５～３９１７、３９１７～３９３９、３９８４～４００６、４０１６～４０３８、４０３５～４０５７、４０５６～４０７８、４０８２～４１０４、４０９７～４１１９、４１２９～４１５１、４１５７～４１７９、４２２３～４２４５、４２３９～４２６１、４２７４～４２９６、４２８９～４３１１、４３０４～４３２６、４３３４～４３５６、４３５２～４３７４、４３６７～４３８９、４３８５～４４０７、４４０２～４４２４、および４４１９～４４４１の群から選択される配列番号１の断片に対してその全長にわたり少なくとも８０％、例えば、約８５％、約９０％、約９１％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、約９６％、約９７％、約９８％、または約９９％相補的である、連続するヌクレオチド配列を含む。上記の列挙された範囲の間にある範囲も本開示の一部であることが企図される。

【０１６６】

他の実施形態において、本明細書に開示されるアンチセンスポリヌクレオチドは、標的ＡＢＬＩＭ３配列に対して実質的に相補的であり、表３または４におけるセンス鎖ヌクレオチド配列のいずれか１つ、または表３または４におけるセンス鎖ヌクレオチド配列のいずれか１つの断片に対してその全長にわたって少なくとも８０％、例えば、約８５％、約９０％、約９１％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、約９６％、約９７％、約９８％、約９９％、または１００％相補的である、連続するヌクレオチド配列を含む。

【０１６７】

一実施形態において、本開示のＲＮＡｉ剤は、アンチセンスポリヌクレオチドに実質的に相補的であり、それによって結局、標的ＡＢＬＩＭ３配列と同じであるセンス鎖を含み、センス鎖ポリヌクレオチドは、配列番号１、または配列番号１のいずれか１つの断片のヌクレオチド配列の同等の領域に対してその全長にわたり少なくとも約８０％、例えば、約８５％、約９０％、約９１％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、約９６％、約９７％、約９８％、約９９％、または１００％相補的である、連続するヌクレオチド配列を含む。

【０１６８】

一部の実施形態において、本発明のｉＲＮＡは、標的ＡＢＬＩＭ３配列に対して相補的であるアンチセンスポリヌクレオチドに対して実質的に相補的であるセンス鎖を含み、センス鎖ポリヌクレオチドは、表３または４におけるアンチセンス鎖ヌクレオチド配列のいずれか１つ、または表３または４におけるアンチセンス鎖ヌクレオチド配列のいずれか１つの断片に対してその全長にわたって少なくとも８０％、例えば、約８５％、約９０％、約９１％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、約９６％、約９７％、約９８％、約９９％、または１００％相補的である、連続するヌクレオチド配列を含む。

【０１６９】

特定の実施形態において、センスおよびアンチセンス鎖は、二重鎖ＡＤ－１８０７４５５、ＡＤ－１８０７４８１、ＡＤ－１８０７５３９、ＡＤ－１８０７５６１、ＡＤ－１８０７５７８、ＡＤ－１８０７５９１、ＡＤ－１８０７６１６、ＡＤ－１８０７６３１、ＡＤ－１８０７６４６、ＡＤ－１８０７６５９、ＡＤ－１８０７７０７、ＡＤ－１８０７７２５、ＡＤ－１８０７７６４、ＡＤ－１８０７７８０、ＡＤ－１８０７８０４、ＡＤ－１８０７８４４、ＡＤ－１８０７８７０、ＡＤ－１８０７８８８、ＡＤ－１８０７８８９、ＡＤ－１８０７９０４、ＡＤ－１８０７９１９、ＡＤ－１８０７９５５、ＡＤ－１８０８

０６３、ＡＤ－１８０８０９８、ＡＤ－１８０８１３９、ＡＤ－１８０８１５７、ＡＤ－１８０８２３８、ＡＤ－１８０８２５８、ＡＤ－１８０８２７３、ＡＤ－１８０８３１２、ＡＤ－１８０８３２７、ＡＤ－１８０８３５６、ＡＤ－１８０８３８３、ＡＤ－１８０８４０７、ＡＤ－１８０８４１８、ＡＤ－１８０８４３３、ＡＤ－１８０８４４８、ＡＤ－１８０８４８２、ＡＤ－１８０８５１１、ＡＤ－１８０８５６１、ＡＤ－１８０８５９８、ＡＤ－１８０８６２８、ＡＤ－１８０８６４９、ＡＤ－１８０８６７８、ＡＤ－１８０８６９８、ＡＤ－１８０８７２７、ＡＤ－１８０８７４８、ＡＤ－１８０８７７３、ＡＤ－１８０８７８９、ＡＤ－１８０８８１４、ＡＤ－１８０８８４２、ＡＤ－１８０８８６５、ＡＤ－１８０８９０１、ＡＤ－１８０８９４１、ＡＤ－１８０８９７８、ＡＤ－１８０９００９、ＡＤ－１８０９０５１、ＡＤ－１８０９０６６、ＡＤ－１８０９０８０、ＡＤ－１８０９１０７、ＡＤ－１８０９１３５、ＡＤ－１８０９１８７、ＡＤ－１８０９２０５、ＡＤ－１８０９２４６、ＡＤ－１８０９２８３、ＡＤ－１８０９２９３、ＡＤ－１８０９３１７、ＡＤ－１８０９３５４、ＡＤ－１８０９３６９、ＡＤ－１８０９３９５、ＡＤ－１８０９４１４、ＡＤ－１８０９４５６、ＡＤ－１８０９４７２、ＡＤ－１８０９４９８、ＡＤ－１８０９５１１、ＡＤ－１８０９５３５、ＡＤ－１８０９５５０、ＡＤ－１８０９５６１、ＡＤ－１８０９５８５、ＡＤ－１８０９５９６、ＡＤ－１８０９６１７、ＡＤ－１８０９６３３、ＡＤ－１８０９６７０、ＡＤ－１８０９７０２、ＡＤ－１８０９７１９、ＡＤ－１８０９７３７、ＡＤ－１８０９７５７、ＡＤ－１８０９７７３、ＡＤ－１８０９８２２、ＡＤ－１８０９８３９、ＡＤ－１８０９８９５、ＡＤ－１８０９９１９、ＡＤ－１８０９９３７、ＡＤ－１８０９９５４、ＡＤ－１８１０００４、ＡＤ－１８１００２３、ＡＤ－１８１００３８、ＡＤ－１８１００５３、ＡＤ－１８１００６８、ＡＤ－１８１０１２７、ＡＤ－１８１０１４３、ＡＤ－１８１０１７４、ＡＤ－１８１０１８９、ＡＤ－１８１０２２１、ＡＤ－１８１０２３９、ＡＤ－１８１０２５５、ＡＤ－１８１０２７７、ＡＤ－１８１０２９２、ＡＤ－１８１０２９６、ＡＤ－１８１０３１３、ＡＤ－１８１０３４５、ＡＤ－１８１０３６３、ＡＤ－１８１０３９８、ＡＤ－１８１０４１５、ＡＤ－１８１０４４６、ＡＤ－１８１０４６８、ＡＤ－１８１０４９４、ＡＤ－１８１０５２６、ＡＤ－１８１０５４５、ＡＤ－１８１０５６６、ＡＤ－１８１０５９１、ＡＤ－１８１０６０６、ＡＤ－１８１０６３８、ＡＤ－１８１０６６６、ＡＤ－１８１０６７６、ＡＤ－１８１０６９２、ＡＤ－１８１０７２７、ＡＤ－１８１０７４２、ＡＤ－１８１０７５７、ＡＤ－１８１０７６７、ＡＤ－１８１０７８５、ＡＤ－１８１０８００、ＡＤ－１８１０８１８、ＡＤ－１８１０８２２およびＡＤ－１８１０８３９のいずれか１つから選択される。

【０１７０】

一実施形態において、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現の少なくとも部分的な抑制は、ＡＢＬＩＭ３　ｍＲＮＡ、例えば、センスｍＲＮＡ、アンチセンスｍＲＮＡ、総ＡＢＬＩＭ３　ｍＲＮＡの量の低減によって評価され、このようなｍＲＮＡは、ＡＢＬＩＭ３遺伝子が転写されており、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現が阻害されるように処置された、または処置されている第１の細胞または細胞群から単離することができる、またはそのような細胞または細胞群において検出され、第１の細胞または細胞群に実質的に同一であるが、そのように処置されたまたは処置されていない第２の細胞または細胞群（対照細胞）と比較される。阻害の程度は、以下によって表すことができる：

【０１７１】

【数１】

$$\frac{(\text{対照細胞中のmRNA})-(\text{処置細胞中のmRNA})}{(\text{対照細胞中のmRNA})} \bullet 100\%$$

【０１７２】

ｄｓＲＮＡなどの「細胞をＲＮＡｉ剤と接触させること」なる語句は、本明細書において使用される場合、任意の可能な手段によって細胞を接触させることを包含する。細胞を

ＲＮＡｉ剤と接触させることは、細胞をインビトロにおいてＲＮＡｉ剤と接触させることまたは細胞をインビボにおいてＲＮＡｉ剤と接触させることを含む。接触させることは、直接的または間接的に行われ得る。したがって、例えば、ＲＮＡｉ剤は、方法を個別に実施することによって、細胞と物理的に接触させ得るか、あるいはＲＮＡｉ剤は、その後に細胞と接触することを可能にし得るまたは引き起こし得るような状況に置かれ得る。

【０１７３】

細胞をインビトロにおいて接触させることは、例えば、細胞をＲＮＡｉ剤と共にインキュベートすることによって為され得る。細胞をインビボ（ｉｎ　ｖｉｖｏ）において接触させることは、例えば、ＲＮＡｉ剤を細胞が位置されている組織中もしくはその付近に注入することによって、または別の領域、例えば、中枢神経系（ＣＮＳ）に、適宜、髄腔内注入、硝子体内注入、もしくは他の注入によってＲＮＡｉ剤を注入することによって、または薬剤がその後に、接触されるべき細胞が位置されている組織に到達するように、血流（すなわち、静脈内）もしくは皮下腔にＲＮＡｉ剤を注入することによって、為され得る。例えば、ＲＮＡｉ剤は、ＲＮＡｉ剤を目的の部位、例えば、ＣＮＳに向かわせるかまたは安定化するリガンド、例えば、下記において説明され、例えば、参照により本明細書に組み込まれるＰＣＴ／ＵＳ２０１９／０３１１７０においてさらに詳述されるような親油性部分を含み得るかまたはそれにカップリングされ得る。接触させるためのインビトロでの方法およびインビボでの方法の組合せも可能である。例えば、細胞をインビトロにおいてＲＮＡｉ剤と接触させ、その後に対象に移してもよい。

【０１７４】

一実施形態において、細胞をＲＮＡｉ剤と接触させることは、細胞内への取り込みまたは吸収を促進または実施することによって「導入すること」または「ＲＮＡｉ剤を細胞内にデリバリーすること」を含む。ＲＮＡｉ剤の吸収または取り込みは、自発的拡散性のもしくは活性な細胞プロセスによって、または助剤もしくはデバイスによって生じ得る。ＲＮＡｉ剤を細胞内に導入することは、インビトロまたはインビボにおいてであり得る。例えば、インビボ導入の場合、ＲＮＡｉ剤は、組織部位に注入され得るかまたは全身的に投与され得る。細胞内へのインビトロ導入としては、当技術分野で公知の方法、例えば、エレクトロポレーションおよびリポフェクションなどが挙げられる。さらなるアプローチは、本明細書の下記において説明されるか、または当技術分野で公知である。

【０１７５】

用語「親油性」または「親油性部分」は、脂質に対して親和性を有する任意の化合物または化学部分を広く意味する。親油性部分の親油性を特徴付ける方法の１つは、オクタノール－水分配係数ｌｏｇＫｏｗによってであり、この場合、Ｋｏｗは、平衡状態の２相系における水相の化学物質の濃度に対するオクタノール相の化学物質の濃度の比である。オクタノール－水分配係数は、物質における実験室測定された特性である。しかしながら、それは、第１原理または経験的方法を使用して算出される化学物質の構造成分に起因する係数を使用することによっても予想され得る［例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Tetko et al., J. Chem. Inf. Comput. Sci. 41:1407-21 (2001)を参照されたい］。それは、水よりもむしろ非水性または油性環境を好む物質の傾向の熱力学的尺度（すなわち、親水性／親油性のバランス）を提供する。原則として、化学物質は、ｌｏｇＫｏｗが０を超える場合、親油性の性質である。典型的には、親油性部分は、１を超える、１．５を超える、２を超える、３を超える、４を超える、５を超える、または１０を超えるｌｏｇＫｏｗを有する。例えば、６－アミノヘキサノールのｌｏｇＫｏｗは、およそ０．７であることが予想される。同じ方法を使用することにより、コレステリルＮ－（ヘキサン－６－オール）カルバメートのｌｏｇＫｏｗは、１０．７であることが予想される。

【０１７６】

分子の親油性は、分子が有する官能基に関して変更することができる。例えば、親油性部分の末端にヒドロキシル基またはアミン基を加えることにより、親油性部分の分配係数（例えば、ｌｏｇＫｏｗ）値を増加または減少させることができる。

【０１７７】
あるいは、１つまたは複数の親油性部分にコンジュゲートされた二本鎖ＲＮＡｉ剤の疎水性は、そのタンパク質結合特性によって測定することができる。例えば、ある特定の実施形態において、二本鎖ＲＮＡｉ剤の血漿タンパク質結合アッセイの非結合分率は、二本鎖ＲＮＡｉ剤のサイレンシング活性に正に相関し得る、二本鎖ＲＮＡｉ剤の相対的疎水性に正に相関することを判定することができる。
【０１７８】
一実施形態において、判定される血漿タンパク質結合アッセイは、ヒト血清アルブミンタンパク質を使用する電気泳動移動度シフトアッセイ（ＥＭＳＡ）である。この結合アッセイの例示的プロトコールは、例えば、ＰＣＴ／ＵＳ２０１９／０３１１７０において詳細に説明される。結合アッセイにおける非結合ｓｉＲＮＡのフラクションによって測定される二本鎖ＲＮＡｉ剤の疎水性は、増強されたｓｉＲＮＡのインビボデリバリーの場合、０．１５を超える、０．２を超える、０．２５を超える、０．３を超える、０．３５を超える、０．４を超える、０．４５を超える、または０．５を超える。
【０１７９】
したがって、親油性部分を二本鎖ＲＮＡｉ剤の内部位置にコンジュゲートすることにより、ｓｉＲＮＡにおける増強されたインビボデリバリーに対する最適の疎水性が提供される。
【０１８０】
用語「脂質ナノ粒子」または「ＬＮＰ」は、薬学的に活性な分子、例えば、核酸分子、例えば、ＲＮＡｉ剤またはＲＮＡｉ剤の転写元のプラスミドなどを封入する脂質層を含むベシクルである。ＬＮＰは、例えば、米国特許第６，８５８，２２５号、同第６，８１５，４３２、８，１５８，６０１号、および同第８，０５８，０６９号に記載されており、その内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。
【０１８１】
本明細書において使用される場合、「対象」は、動物、例えば、哺乳動物、例えば、霊長類（例えば、ヒト、非ヒト霊長類、例えば、サルおよびチンパンジーなど）、または非霊長類（例えば、ラットまたはマウスなど）である。一実施形態において、対象は、ヒトであり、例えばＡＢＬＩＭ３発現の低減が有益であろう疾患、障害、または状態のために処置または評価されたヒト；ＡＢＬＩＭ３発現の低減が有益であろう疾患、障害、または状態のリスクがあるヒト；ＡＢＬＩＭ３発現の低減が有益であろう疾患、障害、または状態を有するヒト；または本明細書に記載されるようにＡＢＬＩＭ３発現の低減が有益であろう疾患、障害、または状態のために処置されたヒトである。一部の実施形態において、対象は、ヒトの女性である。他の実施形態において、対象は、ヒトの男性である。一実施形態において、対象は、ヒトの成人である。一実施形態において、対象は、ヒトの小児である。別の実施形態において、対象は、ヒトの年少者、すなわち、２０歳未満の対象である。
【０１８２】
本明細書において使用される場合、用語「処置すること」または「処置」は、有益なまたは所望の結果を指し、それらとしては、ＡＢＬＩＭ３遺伝子発現またはＡＢＬＩＭ３タンパク質産生に関連する１つまたは複数の兆候または症状、例えば、ＡＢＬＩＭ３関連疾患、例えば、ＰＴＳＤまたは加齢性記憶喪失の緩和または改善が挙げられるが、これらに限定されるわけではない。「処置」は、処置が行われない場合に予想される生存と比較して、生存を延長することも意味し得る。
【０１８３】
対象におけるＡＢＬＩＭ３のレベルまたは疾患マーカーまたは症状に関連する用語「低下させる（ｌｏｗｅｒ）」は、そのようなレベルの統計的に有意な減少を意味する。減少は、例えば、少なくとも１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、またはそれ以上であり得る。特定の実施形態において、減少は、少なくとも約２０％で

ある。特定の実施形態において、減少は、疾患マーカーにおける少なくとも約３０％、例えば、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９９％、またはそれ以上の減少である。特定の実施形態において、減少は、疾患マーカーにおける少なくとも約５０％の減少である。対象におけるＡＢＬＩＭ３のレベルに関連する場合、「低下させる」は、好ましくは、そのような障害のない個体における正常な範囲内として受け入れられるレベルまで下げることである。ある特定の実施形態において、「低下させる」は、疾患を患っている対象におけるマーカーまたは症状のレベルと、個体における正常な範囲内で受け入れられるレベルとの間の差の減少、例えば、受け入れられる正常なレベルと比較した記憶喪失のレベルの差の減少である。

【０１８４】

本明細書において使用される場合、「予防」または「予防すること」は、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現またはＡＢＬＩＭ３タンパク質の産生の低減が有益であろう疾患、障害、またはその状態に関して使用される場合、対象が、そのような疾患、障害、または状態に関連する症状または兆候、例えば、ＡＢＬＩＭ３関連疾患の症状または兆候、例えば、ＰＴＳＤまたは加齢性記憶喪失を発症する尤度の低減を指す。疾患、障害、または状態を発症しないこと、またはそのような疾患、障害、または状態に関連する症状の発症の減少（例えば、その疾患または障害に対して臨床的に受け入れられる規模の少なくとも約１０％の減少）、または遅延された症状の提示の遅延（例えば、数日、数週間、数か月、または数年の遅延）は、有効な予防とみなされる。

【０１８５】

本明細書において使用される場合、用語「ＡＢＬＩＭ３関連疾患」、「ＡＢＬＩＭ３関連状態」、または「ＡＢＬＩＭ３関連障害」としては、ＡＢＬＩＭ３の発現および／または活性の低減が有益であろうあらゆる疾患、状態、または障害を含む。例示的なＡＢＬＩＭ３関連状態としては、ＰＴＳＤまたは加齢性記憶喪失が挙げられる。

【０１８６】

「治療有効量」は、本明細書において使用される場合、ＡＢＬＩＭ３関連疾患を有する対象に投与されたときに、疾患の処置（例えば、既存の疾患または疾患の１つもしくは複数の症状を減少、改善、または維持することによる）を実施するのに十分なＲＮＡ剤の量を含むことが意図される。「治療有効量」は、ＲＮＡｉ剤、薬剤がどのように投与されるか、疾患およびその重症度、ならびに病歴、年齢、体重、家族歴、遺伝子構造、先行または並行する処置のタイプ、存在するのであれば、処置される対象の他の個別の特性に応じて変わり得る。

【０１８７】

「予防有効量」は、本明細書において使用される場合、ＡＢＬＩＭ３関連疾患を有する対象に投与されたときに、疾患または疾患の１つまたは複数の症状を予防または改善するのに十分なＲＮＡｉ剤の量を含むことが意図される。疾患の改善は、疾患の経過を鈍化させること、または後で発症する疾患の重症度を減少させることを含む。「予防有効量」は、ＲＮＡｉ剤、薬剤がどのように投与されるか、疾患のリスクの程度、ならびに病歴、年齢、体重、家族歴、遺伝子構造、先行または並行する処置のタイプ、存在するのであれば、処置される患者の他の個別の特性に応じて変わり得る。

【０１８８】

「治療有効量」または「予防有効量」は、任意の処置に適用可能な合理的な恩恵／リスク比においていくつかの所望の局所的または全身的効果を生じるＲＮＡｉ剤の量も包含する。本開示の方法において用いられるＲＮＡｉ剤は、そのような処置に適用可能な合理的な恩恵／リスク比を生じるのに十分な量において投与され得る。

【０１８９】

語句「薬学的に許容される」は、過度の毒性、刺激性、アレルギー反応、または他の問題もしくは合併症なしに、合理的な恩恵／リスク比に見合う、健全な医学的判断の範囲内でのヒト対象および動物対象の組織との接触における使用にとって好適な、化合物、材料

、組成物、または剤形を意味するために本明細書において用いられる。

【０１９０】

語句「薬学的に許容される担体」は、本明細書において使用される場合、１つの臓器、または身体の一部分から、他の臓器、例えば、身体の一部分への対象化合物の搬送または輸送に関与する、薬学的に許容される材料、組成物、またはビヒクル、例えば、液体または固体充填剤など、希釈剤、賦形剤、製造助剤（例えば、潤滑剤、タルクマグネシウム、ステアリン酸カルシウムもしくはステアリン酸亜鉛、またはステアリン酸）、または溶媒封入材料を意味する。各担体は、製剤の他の原材料に対して適合性であるという意味において「許容され」なければならず、ならびに処置される対象に対して有害であってはならない。薬学的に許容される担体として機能し得る材料のいくつかの例としては、（１）糖、例えば、ラクトース、グルコース、およびショ糖など；（２）デンプン、例えば、トウモロコシデンプンおよびジャガイモデンプンなど；（３）セルロースおよびその誘導体、例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース、および酢酸セルロースなど；（４）トラガント末；（５）モルト；（６）ゼラチン；（７）潤滑剤、例えば、ステアリン酸マグネシウム、ラウリル硫酸ナトリウム、およびタルクなど；（８）賦形剤、例えば、ココアバターおよび座剤ワックスなど；（９）オイル、例えば、落花生油、綿実油、サフラワー油、胡麻油、オリーブ油、トウモロコシ油、および大豆油など；（１０）グリコール、例えば、プロピレングリコールなど；（１１）ポリオール、例えば、グリセリン、ソルビトール、マンニトール、およびポリエチレングリコールなど；（１２）エステル、例えば、オレイン酸エチルおよびラウリン酸エチルなど；（１３）寒天；（１４）緩衝剤、例えば、水酸化マグネシウムおよび水酸化アルミニウムなど；（１５）アルギン酸；（１６）発熱物質不含水；（１７）等張食塩水；（１８）リンガー溶液；（１９）エチルアルコール；（２０）ｐＨ緩衝溶液；（２１）ポリエステル、ポリカーボネート、またはポリ無水物；（２２）充填剤（ｂｕｌｋｉｎｇ　ａｇｅｎｔ）、例えば、ポリペプチドおよびアミノ酸など；（２３）血清成分、例えば、血清アルブミン、ＨＤＬ、およびＬＤＬなど；ならびに（２２）医薬製剤に用いられるその他の無毒の親和性物質が挙げられる。

【０１９１】

用語「試料」は、本明細書において使用される場合、対象から単離された同様の体液、細胞、または組織、ならびに対象内に存在する体液、細胞、または組織のコレクションを包含する。生体液の例としては、血液、血清、および漿膜液、血漿、髄液、眼液、リンパ液、尿、唾液、などが挙げられる。組織試料は、組織、臓器、または局所領域からの試料を含み得る。例えば、試料は、特定の臓器、臓器の一部、またはそれらの臓器内の体液または細胞から得られ得る。ある特定の実施形態において、試料は、脳（例えば、脳全体または脳のある特定のセグメント、例えば、海馬、線条体、または脳におけるある特定のタイプの細胞、例えば、歯状回顆粒細胞、ニューロン、およびグリア細胞（星状細胞、オリゴデンドロサイト、小グリア細胞））から得ることができる。一部の実施形態において、「対象から得られた試料」は、対象から得られた血液またはそれらから得られた血漿もしくは血清を意味する。さらなる実施形態において、「対象から得られた試料」は、対象から得られた脳組織（またはその副成分）または網膜組織（またはその副成分）を意味する。

【０１９２】

用語「置換されている」は、所与の構造における１つまたは複数の水素ラジカルが特定の置換基のラジカルで置き換えられていることを指す。それらとしては、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロシクリル、ハロ、チオール、アルキルチオ、アリールチオ、アルキルチオアルキル、アリールチオアルキル、アルキルスルホニル、アルキルスルホニルアルキル、アリールスルホニルアルキル、アルコキシ、アリールオキシ、アラルコキシ、アミノカルボニル、アルキルアミノカルボニル、アリールアミノカルボニル、アルコキシカルボニル、アリールオキシカルボニル、ハロアルキル、アミノ、トリフルオロメチル、シアノ、ニトロ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アルキルアミノアルキ

ル、アリールアミノアルキル、アミノアルキルアミノ、ヒドロキシ、アルコキシアルキル、カルボキシアルキル、アルコキシカルボニルアルキル、アミノカルボニルアルキル、アシル、アラルコキシカルボニル、カルボン酸、スルホン酸、スルホニル、ホスホン酸、アリール、ヘテロアリール、複素環式、および脂肪族が挙げられるが、これらに限定されるわけではない。置換基をさらに置換することができることは理解されよう。

【０１９３】

用語「アルキル」は、示された数の炭素原子を含有する、直鎖でも分岐鎖でもよい飽和および不飽和非芳香族炭化水素鎖（これらとしては、限定するものではないが、プロピル、アリル、またはプロパルギルが挙げられる）を指し、それらは、Ｎ、Ｏ、またはＳが挿入されていてもよい。例えば、「（Ｃ１～Ｃ６）アルキル」は、線状または分岐状に配置された１～６個の炭素原子を有するラジカルを意味する。「（Ｃ１～Ｃ６）アルキル」としては、例えば、メチル、エチル、プロピル、イソ－プロピル、ｎ－ブチル、ｔｅｒｔ－ブチル、ペンチル、およびヘキシルが挙げられる。ある特定の実施形態において、本開示の親油性部分は、Ｃ６～Ｃ１８アルキル炭化水素鎖を含み得る。

【０１９４】

用語「アルキレン」は、指定された数の炭素原子を有する、置換されていてもよい飽和脂肪族分岐鎖または直鎖の二価炭化水素ラジカルを指す。例えば、「（Ｃ１～Ｃ６）アルキレン」は、線状に配置された１～６個の炭素原子を有する二価飽和脂肪族ラジカル、例えば、［（CH_2）$_n$］（式中、ｎは１～６の整数である）を意味する。「（Ｃ１～Ｃ６）アルキレン」としては、メチレン、エチレン、プロピレン、ブチレン、ペンチレン、およびヘキシレンが挙げられる。あるいは、「（Ｃ１～Ｃ６）アルキレン」は、分岐状に配置された１～６個の炭素原子を有する二価飽和ラジカル、例えば：［（$CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH$（CH_3）］、［（$CH_2CH_2CH_2CH_2C$（CH_3）$_2$］、［（CH_2C（CH_3）$_2CH$（CH_3））］などを意味する。用語「アルキレンジオキソ」は、構造－Ｏ－Ｒ－Ｏ－（式中、Ｒはアルキレンを表す）の二価の種を指す。

【０１９５】

用語「メルカプト」は、－ＳＨラジカルを指す。用語「チオアルコキシ」は、－Ｓ－アルキルラジカルを指す。

【０１９６】

用語「ハロ」は、フッ素、塩素、臭素、またはヨウ素のいずれかのラジカルを指す。「ハロゲン」および「ハロ」は、本明細書において相互互換的に使用される。

【０１９７】

本明細書において使用される場合、用語「シクロアルキル」は、特に指定されない限り３～１４個の炭素原子を有する、飽和または不飽和非芳香族炭化水素環基を意味する。例えば、「（Ｃ３～Ｃ１０）シクロアルキル」は、（３～１０）員の飽和脂肪族環状炭化水素環の炭化水素ラジカルを意味する。シクロアルキル基の例としては、シクロプロピル、メチル－シクロプロピル、２，２－ジメチル－シクロブチル、２－エチル－シクロペンチル、シクロヘキシルなどが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。シクロアルキルには、複数のスピロ環または縮合環が含まれてもよい。シクロアルキル基は、通常の価数によって許容される限り、任意の位置で一、二、三、四、または五置換されていてもよい。

【０１９８】

本明細書において使用される場合、用語「アルケニル」は、少なくとも１個の炭素－炭素二重結合を含有し、特に指定されない限り２～１０個の炭素原子を有する、直鎖状または分岐状の非芳香族炭化水素ラジカルを指す。そのような基には５個までの炭素－炭素二重結合が存在してもよい。例えば、「Ｃ２～Ｃ６」アルケニルは、２～６個の炭素原子を有するアルケニルラジカルとして定義される。アルケニル基の例としては、エテニル、プロペニル、ブテニル、およびシクロヘキセニルが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。アルケニル基の直鎖状、分岐状、または環状部分は、二重結合を含有してもよく、通常の価数によって許容される限り、任意の位置で一、二、三、四、または五置換さ

れていてもよい。用語「シクロアルケニル」は、指定された数の炭素原子を有し、少なくとも１個の炭素－炭素二重結合を有する単環式炭化水素基を意味する。

【０１９９】

本明細書において使用される場合、用語「アルキニル」は、特に指定されない限り２～１０個の炭素原子を含有し、少なくとも１個の炭素－炭素三重結合を含有する、直鎖状または分岐状の炭化水素ラジカルを指す。５個までの炭素－炭素三重結合が存在してもよい。したがって、「Ｃ２～Ｃ６アルキニル」は、２～６個の炭素原子を有するアルキニルラジカルを意味する。アルキニル基の例としては、エチニル、２－プロピニル、および２－ブチニルが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。アルキニル基の直鎖状または分岐状部分は、通常の価数によって許容される限り三重結合を含有してもよく、通常の価数によって許容される限り、任意の位置で一、二、三、四、または五置換されていてもよい。

【０２００】

本明細書において使用される場合、「アルコキシル」または「アルコキシ」は、示した数の炭素原子が酸素架橋を通して結合された、上に定義される通りのアルキル基を指す。例えば、「（Ｃ１～Ｃ３）アルコキシ」には、メトキシ、エトキシ、およびプロポキシが含まれる。例えば、「（Ｃ１～Ｃ６）アルコキシ」には、Ｃ１、Ｃ２、Ｃ３、Ｃ４、Ｃ５、およびＣ６アルコキシ基が含まれることが意図される。例えば、「（Ｃ１～Ｃ８）アルコキシ」には、Ｃ１、Ｃ２、Ｃ３、Ｃ４、Ｃ５、Ｃ６、Ｃ７、およびＣ８アルコキシ基が含まれることが意図される。アルコキシの例としては、メトキシ、エトキシ、ｎ－プロポキシ、ｉ－プロポキシ、ｎ－ブトキシ、ｓ－ブトキシ、ｔ－ブトキシ、ｎ－ペントキシ、ｓ－ペントキシ、ｎ－ヘプトキシ、およびｎ－オクトキシが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。「アルキルチオ」は、硫黄連結原子を通して結合されたアルキルラジカルを意味する。用語「アルキルアミノ」または「アミノアルキル」は、ＮＨ連結を通して結合されたアルキルラジカルを意味する。「ジアルキルアミノ」は、窒素連結原子を通して結合された２個のアルキルラジカルを意味する。アミノ基は、非置換であっても、一置換されていても、または二置換されていてもよい。一部の実施形態において、２個のアルキルラジカルは同じである（例えば、Ｎ，Ｎ－ジメチルアミノ）。一部の実施形態において、２個のアルキルラジカルは異なっている（例えば、Ｎ－エチル－Ｎ－メチルアミノ）。

【０２０１】

本明細書において使用される場合、「アリール」または「芳香族」は、各環に７個までの原子を有する任意の安定な単環式または多環式炭素環であって、少なくとも１個の環が芳香族であるものを意味する。アリール基の例としては、フェニル、ナフチル、アントラセニル、テトラヒドロナフチル、インダニル、およびビフェニルが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。アリール置換基が二環式であり、一方の環が非芳香族である場合、結合が芳香族環を介することは理解されよう。アリール基は、通常の価数によって許容される限り、任意の位置で一、二、三、四、または五置換されていてもよい。用語「アリールアルキル」または用語「アラルキル」は、アリールで置換されているアルキルを指す。用語「アリールアルコキシ」は、アリールで置換されているアルコキシを指す。

【０２０２】

「ヘテロ」は、環構造における少なくとも１個の炭素原子が、Ｎ、Ｓ、およびＯから選択される少なくとも１個のヘテロ原子で置き換えられたものを指す。「ヘテロ」は、非環構造における少なくとも１個の炭素原子が置き換えられたものも指す。ヘテロ環構造またはヘテロ非環構造は、例えば、ヘテロ原子によって置き換えられた１、２、または３個の炭素原子を有し得る。

【０２０３】

本明細書において使用される場合、用語「ヘテロアリール」は、各環に７個までの原子を有する安定な単環式または多環式環であって、少なくとも１個の環が芳香族であり、Ｏ、Ｎ、およびＳからなる群から選択される１～４個のヘテロ原子を含有するものを表す。

ヘテロアリール基の例としては、アクリジニル、カルバゾリル、シンノリニル、キノキサリニル、ピラゾリル（ｐｙｒｒａｚｏｌｙｌ）、インドリル、ベンゾトリアゾリル、フラニル、チエニル、ベンゾチエニル、ベンゾフラニル、ベンズイミダゾロニル、ベンゾオキサゾロニル、キノリニル、イソキノリニル、ジヒドロイソインドロニル、イミダゾピリジニル、イソインドロニル、インダゾリル、オキサゾリル、オキサジアゾリル、イソオキサゾリル、インドリル、ピラジニル、ピリダジニル、ピリジニル、ピリミジニル、ピロリル、テトラヒドロキノリンが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。「ヘテロアリール」には、任意の窒素含有ヘテロアリールのＮ－オキシド誘導体が含まれることは理解されよう。ヘテロアリール置換基が二環式であり、一方の環が非芳香族であるかヘテロ原子を含有しない場合、結合が、芳香族環を介するか、またはヘテロ原子を含有する環を介することは理解されよう。ヘテロアリール基は、通常の価数によって許容される限り、任意の位置で一、二、三、四、または五置換されていてもよい。

【０２０４】

本明細書において使用される場合、用語「複素環」、「複素環式」、または「ヘテロシクリル」は、Ｏ、Ｎ、およびＳからなる群から選択される１～４個のヘテロ原子を含有する、多環式基を含めた３～１４員の芳香族または非芳香族複素環を意味する。本明細書において使用される場合、用語「複素環式」はまた、用語「複素環」および「ヘテロシクリル」と同義であるとみなされ、それもまた本明細書において説明されるものと同じ定義を有すると理解される。「ヘテロシクリル」には、上述のヘテロアリール、ならびにそのジヒドロおよびテトラヒドロ類似体が含まれる。ヘテロシクリル基の例としては、アゼチジニル、ベンゾイミダゾリル、ベンゾフラニル、ベンゾフラザニル、ベンゾピラゾリル、ベンゾトリアゾリル、ベンゾチオフェニル、ベンゾオキサゾリル、カルバゾリル、カルボリニル、シンノリニル、フラニル、イミダゾリル、インドリニル、インドリル、インドラジニル、インダゾリル、イソベンゾフラニル、イソインドリル、イソキノリル、イソチアゾリル、イソオキサゾリル、ナフトピリジニル、オキサジアゾリル、オキソオキサゾリジニル、オキサゾリル、オキサゾリン、オキソピペラジニル、オキソピロリジニル、オキソモルホリニル、イソキサゾリン、オキセタニル、ピラニル、ピラジニル、ピラゾリル、ピリダジニル、ピリドピリジニル、ピリダジニル、ピリジル、ピリジノニル、ピリミジル、ピリミジノニル、ピロリル、キナゾリニル、キノリル、キノキサリニル、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロチオピラニル、テトラヒドロイソキノリニル、テトラゾリル、テトラゾロピリジル、チアジアゾリル、チアゾリル、チエニル、トリアゾリル、１，４－ジオキサニル、ヘキサヒドロアゼピニル、ピペラジニル、ピペリジニル、ピリジン－２－オニル、ピロリジニル、モルホリニル、チオモルホリニル、ジヒドロベンゾイミダゾリル、ジヒドロベンゾフラニル、ジヒドロベンゾチオフェニル、ジヒドロベンゾオキサゾリル、ジヒドロフラニル、ジヒドロイミダゾリル、ジヒドロインドリル、ジヒドロイソオキサゾリル、ジヒドロイソチアゾリル、ジヒドロオキサジアゾリル、ジヒドロオキサゾリル、ジヒドロピラジニル、ジヒドロピラゾリル、ジヒドロピリジニル、ジヒドロピリミジニル、ジヒドロピロリル、ジヒドロキノリニル、ジヒドロテトラゾリル、ジヒドロチアジアゾリル、ジヒドロチアゾリル、ジヒドロチエニル、ジヒドロトリアゾリル、ジヒドロアゼチジニル、ジオキシドチオモルホリニル、メチレンジオキシベンゾイル、テトラヒドロフラニル、およびテトラヒドロチエニル、ならびにそれらのＮ－オキシドが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。ヘテロシクリル置換基の結合は、炭素原子を介するか、またはヘテロ原子を介して生じ得る。ヘテロシクリル基は、通常の価数によって許容される限り、任意の位置で一、二、三、四、または五置換されていてもよい。

【０２０５】

「ヘテロシクロアルキル」は、炭素の１～４個が、酸素、窒素、または硫黄などのヘテロ原子によって置き換えられたシクロアルキル残基を指す。ラジカルがヘテロシクリル基である複素環の例としては、テトラヒドロピラン、モルホリン、ピロリジン、ピペリジン、チアゾリジン、オキサゾール、オキサゾリン、イソオキサゾール、ジオキサン、テトラ

ヒドロフランなどが挙げられる。
【０２０６】
用語「ヘテロアリール」は、単環式であれば１～３個のヘテロ原子、二環式であれば１～６個のヘテロ原子、または三環式であれば１～９個のヘテロ原子を有し、前記ヘテロ原子が、Ｏ、Ｎ、またはＳから選択される（例えば、炭素原子と、単環式、二環式、または三環式ならばそれぞれ１～３個、１～６個、または１～９個の、Ｎ、Ｏ、またはＳのヘテロ原子とを有する）、芳香族５～８員単環式、８～１２員二環式、または１１～１４員三環式環構造を指し、各環の０、１、２、３、または４個の原子は、置換基によって置換されていてもよい。ヘテロアリール基の例としては、ピリジル、フリルまたはフラニル、イミダゾリル、ベンズイミダゾリル、ピリミジニル、チオフェニルまたはチエニル、キノリニル、インドリル、チアゾリルなどが挙げられる。用語「ヘテロアリールアルキル」または用語「ヘテロアラルキル」は、ヘテロアリールで置換されたアルキルを指す。用語「ヘテロアリールアルコキシ」は、ヘテロアリールで置換されたアルコキシを指す。
【０２０７】
用語「シクロアルキル」には、本明細書において用いられる場合、３～１２個の炭素、例えば３～８個の炭素、例えば３～６個の炭素を有する、飽和および部分的不飽和の環式炭化水素基が含まれ、該シクロアルキル基は追加的に適宜置換されていてもよい。シクロアルキル基としては、限定するものではないが、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロペンテニル、シクロヘキシル、シクロヘキセニル、シクロヘプチル、およびシクロオクチルが挙げられる。
【０２０８】
用語「アシル」は、アルキルカルボニル、シクロアルキルカルボニル、アリールカルボニル、ヘテロシクリルカルボニル、またはヘテロアリールカルボニル置換基を指し、これらのいずれも置換基によってさらに置換されていてもよい。
【０２０９】
本明細書において使用される場合、「ケト」は、カルボニル架橋を通して結合された、本明細書に定義される通りの任意のアルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、ヘテロシクリル、ヘテロアリール、またはアリール基を指す。
【０２１０】
ケト基の例としては、アルカノイル（例えば、アセチル、プロピオニル、ブタノイル、ペンタノイル、ヘキサノイル）、アルケノイル（例えば、アクリロイル）、アルキノイル（例えば、エチノイル、プロピノイル、ブチノイル、ペンチノイル、ヘキシノイル）、アリーロイル（例えば、ベンゾイル）、ヘテロアリーロイル（例えば、ピロロリル、イミダゾロイル、キノリノイル、ピリジノイル）が挙げられるが、これらに限定されるわけではない。
【０２１１】
本明細書において使用される場合、「アルコキシカルボニル」は、カルボニル架橋を通して結合された、上に定義される通りの任意のアルコキシ基（すなわち、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－アルキル）を指す。アルコキシカルボニル基の例としては、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、イソ－プロポキシカルボニル、ｎ－プロポキシカルボニル、ｔ－ブトキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニル、またはｎ－ペントキシカルボニルが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。
【０２１２】
本明細書において使用される場合、「アリールオキシカルボニル」は、オキシカルボニル架橋を通して結合された、本明細書に定義される通りの任意のアリール基（すなわち、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－アリール）を指す。アリールオキシカルボニル基の例としては、フェノキシカルボニルおよびナフチルオキシカルボニルが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。
【０２１３】
本明細書において使用される場合、「ヘテロアリールオキシカルボニル」は、オキシカ

ルボニル架橋を通して結合された、本明細書に定義される通りの任意のヘテロアリール基（すなわち、－Ｃ（Ｏ）Ｏ－ヘテロアリール）を指す。ヘテロアリールオキシカルボニル基の例としては、２－ピリジルオキシカルボニル、２－オキサゾリルオキシカルボニル、４－チアゾリルオキシカルボニル、またはピリミジニルオキシカルボニルが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。

【０２１４】

用語「オキソ」は、炭素に結合されたときはカルボニルを形成し、窒素に結合されたときはＮ－オキシドを形成し、硫黄に結合されたときはスルホキシドまたはスルホンを形成する、酸素原子を指す。

【０２１５】

本明細書に開示される化合物および組成物は、その化合物または組成物が置かれた環境に応じて、特定の原子（例えば、Ｎ、Ｏ、またはＳ原子）がプロトン化または脱プロトン化された状態で有する場合があることを、当業者であれば容易に理解および認識するであろう。したがって、本明細書において使用される場合、本明細書に開示される構造は、ある特定の官能基、例えば、ＯＨ、ＳＨ、またはＮＨなどがプロトン化または脱プロトン化されている場合があることが想定される。本発明における開示は、当業者によって容易に理解されるように、開示される化合物および組成物を、環境のｐＨに基づいたそれらのプロトン化の状態にかかわらず網羅することが意図される。

【０２１６】

ＩＩ．本開示のＲＮＡｉ剤

本明細書に記載されるのは、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現を阻害するＲＮＡｉ剤である。一実施形態において、ＲＮＡｉ剤は、細胞、例えば、対象（例えば、哺乳動物、例えば、ＡＢＬＩＭ３関連疾患、例えば、ＰＴＳＤまたは加齢性記憶喪失を有するヒト）内の細胞におけるＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現を阻害するための、二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡ）分子を含む。ｄｓＲＮＡは、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現の際に形成されるｍＲＮＡの少なくとも一部に対して相補的である相補性の領域を有するアンチセンス鎖を含む。相補性の領域は、約１５～３０ヌクレオチド以下の長さである。ＡＢＬＩＭ３遺伝子を発現する細胞と接触すると、ＲＮＡｉ剤は、ＡＢＬＩＭ３遺伝子（例えば、ヒト遺伝子、霊長類遺伝子、または非霊長類遺伝子）の発現を、ＲＮＡｉ剤と接触していない同様の細胞またはＡＢＬＩＭ３遺伝子と相補的ではないＲＮＡｉ剤と比較して少なくとも３０％阻害する。遺伝子の発現は、例えば、ＰＣＲもしくは分岐ＤＮＡ（ｂＤＮＡ）ベースの方法によって、またはタンパク質ベースの方法によって、例えば、ウェスタンブロッティングまたはフローサイトメトリー技術を使用する免疫蛍光分析などによってアッセイすることができる。一実施形態において、ノックダウンのレベルは、以下の実施例２に提供されるアッセイ方法を使用してサルＣｏｓ－７細胞でアッセイされる。別の実施形態において、ノックダウンのレベルは、ヒトＢＥ（２）－Ｃ細胞でアッセイされる。一部の実施形態において、ノックダウンのレベルは、ＤＵ１４５細胞でアッセイされる。

【０２１７】

ｄｓＲＮＡは、２つのＲＮＡ鎖を含み、それらは、相補的であり、ｄｓＲＮＡが使用される条件下においてハイブリダイズして二重鎖構造を形成する。ｄｓＲＮＡの一方の鎖（アンチセンス鎖）は、標的配列に対して実質的に相補的で、又は完全に相補的である、相補性の領域を含む。標的配列は、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現の際に形成されたｍＲＮＡのホットスポットの配列から得ることができる。他方の鎖（センス鎖）は、アンチセンス鎖に対して相補的な領域を含み、それにより、２つの鎖は、好適な条件下で組み合わされた場合、ハイブリダイズして二重鎖構造を形成する。本明細書の他の箇所で説明され、当技術分野で公知であるように、ｄｓＲＮＡの相補配列は、別々のオリゴヌクレオチド上において相対するように、単一の核酸分子の自己相補領域として含ませることもできる。

【０２１８】

概して、二重鎖構造は、１５から３０塩基対の長さ、例えば、１５～２９、１５～２８、１５～２７、１５～２６、１５～２５、１５～２４、１５～２３、１５～２２、１５～

２１、１５～２０、１５～１９、１５～１８、１５～１７、１８～３０、１８～２９、１８～２８、１８～２７、１８～２６、１８～２５、１８～２４、１８～２３、１８～２２、１８～２１、１８～２０、１９～３０、１９～２９、１９～２８、１９～２７、１９～２６、１９～２５、１９～２４、１９～２３、１９～２２、１９～２１、１９～２０、２０～３０、２０～２９、２０～２８、２０～２７、２０～２６、２０～２５、２０～２４、２０～２３、２０～２２、２０～２１、２１～３０、２１～２９、２１～２８、２１～２７、２１～２６、２１～２５、２１～２４、２１～２３、または２１～２２塩基対の長さである。ある特定の実施形態において、二重鎖構造は、１８から２５塩基対の長さ、例えば、１８～２５、１８～２４、１８～２３、１８～２２、１８～２１、１８～２０、１９～２５、１９～２４、１９～２３、１９～２２、１９～２１、１９～２０、２０～２５、２０～２４、２０～２３、２０～２２、２０～２１、２１～２５、２１～２４、２１～２３、２１～２２、２２～２５、２２～２４、２２～２３、２３～２５、２３～２４、または２４～２５塩基対の長さ、例えば、１９～２１塩基対の長さである。上記に列記した範囲および長さの中間的な範囲および長さも、本開示の一部であることが想到される。

【０２１９】

同様に、標的配列に対する相補性の領域は、１５から３０ヌクレオチド長、例えば、１５～２９、１５～２８、１５～２７、１５～２６、１５～２５、１５～２４、１５～２３、１５～２２、１５～２１、１５～２０、１５～１９、１５～１８、１５～１７、１８～３０、１８～２９、１８～２８、１８～２７、１８～２６、１８～２５、１８～２４、１８～２３、１８～２２、１８～２１、１８～２０、１９～３０、１９～２９、１９～２８、１９～２７、１９～２６、１９～２５、１９～２４、１９～２３、１９～２２、１９～２１、１９～２０、２０～３０、２０～２９、２０～２８、２０～２７、２０～２６、２０～２５、２０～２４、２０～２３、２０～２２、２０～２１、２１～３０、２１～２９、２１～２８、２１～２７、２１～２６、２１～２５、２１～２４、２１～２３、または２１～２２ヌクレオチド長、例えば、１９～２３ヌクレオチド長または２１～２３ヌクレオチド長である。上記に列記した範囲および長さの中間的な範囲および長さも、本開示の一部であることが想到される。

【０２２０】

一部の実施形態において、二重鎖構造は、１９から３０塩基対の長さである。同様に、標的配列に対する相補性の領域は、１９から３０ヌクレオチド長である。

【０２２１】

一部の実施形態において、ｄｓＲＮＡは、１５から２３ヌクレオチド長、１９から２３ヌクレオチド長、または２５から３０ヌクレオチド長である。概して、ｄｓＲＮＡは、Ｄｉｃｅｒ酵素のための基質として機能するのに十分に長い。例えば、約２１～２３ヌクレオチドより長いｄｓＲＮＡは、Ｄｉｃｅｒのための基質として機能することができることは、当技術分野において周知である。当業者も認識するであろうように、切断のために標的化されるＲＮＡの領域は、ほとんどの場合、より長いＲＮＡ分子、多くの場合、ｍＲＮＡ分子の一部である。関連する場合、ｍＲＮＡ標的の「一部」は、ＲＮＡｉ依存性切断（すなわち、ＲＩＳＣ経路による切断）のための基質であることを可能にするのに十分な長さのｍＲＮＡ標的の連続配列である。

【０２２２】

当業者は、二重鎖領域が、ｄｓＲＮＡの一次機能部分、例えば、１５から３６塩基対、例えば、１５～３６、１５～３５、１５～３４、１５～３３、１５～３２、１５～３１、１５～３０、１５～２９、１５～２８、１５～２７、１５～２６、１５～２５、１５～２４、１５～２３、１５～２２、１５～２１、１５～２０、１５～１９、１５～１８、１５～１７、１８～３０、１８～２９、１８～２８、１８～２７、１８～２６、１８～２５、１８～２４、１８～２３、１８～２２、１８～２１、１８～２０、１９～３０、１９～２９、１９～２８、１９～２７、１９～２６、１９～２５、１９～２４、１９～２３、１９～２２、１９～２１、１９～２０、２０～３０、２０～２９、２０～２８、２０～２７、２０～２６、２０～２５、２０～２４、２０～２３、２０～２２、２０～２１、２１～３

０、２１～２９、２１～２８、２１～２７、２１～２６、２１～２５、２１～２４、２１～２３、または２１～２２塩基対、例えば、１９～２１塩基対の二重鎖領域であることも認識するであろう。したがって、一実施形態において、切断のために所望のＲＮＡを標的化する、例えば、１５～３０塩基対の、機能的二重鎖へとプロセシングされる限り、３０超の塩基対の二重鎖領域を有するＲＮＡ分子またはＲＮＡ分子の複合体は、ｄｓＲＮＡである。したがって、当業者は、一実施形態において、ｍｉＲＮＡがｄｓＲＮＡであることを認識するであろう。別の実施形態において、ｄｓＲＮＡは、天然に存在するｍｉＲＮＡではない。別の実施形態において、ＡＢＬＩＭ３発現を標的化するために有用なＲＮＡｉ剤は、より大きなｄｓＮＲＡの切断によって標的細胞において生成されない。

【０２２３】

本明細書において説明されるｄｓＲＮＡは、例えば、１、２、３、または４ヌクレオチドの、１つまたは複数の一本鎖ヌクレオチドオーバーハングをさらに含むことができる。ヌクレオチドオーバーハングは、デオキシヌクレオチド／ヌクレオシドなどのヌクレオチド／ヌクレオシドアナログを含み得るかまたはそれらからなり得る。オーバーハングは、センス鎖上、アンチセンス鎖上、またはそれらの任意の組合せであり得る。その上、オーバーハングのヌクレオチドは、ｄｓＲＮＡのアンチセンス鎖またはセンス鎖のどちらかの５’端上、３’端上、またはその両方に存在し得る。

【０２２４】

ｄｓＲＮＡは、当技術分野で公知の標準的な方法によって合成することができる。本発明の二本鎖ＲＮＡｉ化合物は、二段階手法を使用して調製され得る。最初に、二本鎖ＲＮＡ分子の個々の鎖が、別々に調製される。次いで、当該成分の鎖がアニールされる。ｄｓＲＮＡ化合物の個々の鎖は、溶液相または固相有機合成またはその両方を使用して調製することができる。有機合成は、非天然のヌクレオチドまたは修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド鎖を容易に調製することができるという利点を提供する。同様に、本発明の一本鎖オリゴヌクレオチドは、溶液相または固相有機合成またはその両方を使用して調製することができる。

【０２２５】

一態様では、本開示のｄｓＲＮＡは、少なくとも２つのヌクレオチド配列、すなわち、センス鎖およびアンチセンス鎖を含む。ＡＢＬＩＭ３に対するセンス鎖配列は、表３または４において提供される配列の群から選択され得、ならびにセンス鎖の、アンチセンス鎖の対応するヌクレオチドは、表３または４の配列の群から選択され得る。この態様では、２つの配列の一方は、２つの配列の他方に対して相補的であり、この場合、配列の一方は、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現の際に生じたｍＲＮＡの配列に対して実質的に相補的である。そのため、この態様では、ｄｓＲＮＡは、一方のオリゴヌクレオチドが、表３または４におけるセンス鎖（パッセンジャー鎖）として説明され、第２のオリゴヌクレオチドが、表３または４におけるセンス鎖に対する対応するアンチセンス鎖（ガイド鎖）として説明される、２つのオリゴヌクレオチドを含むであろう。

【０２２６】

一実施形態において、ｄｓＲＮＡに対する実質的に相補的な配列は、別々のオリゴヌクレオチドに含まれる。別の実施形態において、ｄｓＲＮＡに対する実質的に相補的な配列は、単一のオリゴヌクレオチドに含まれる。

【０２２７】

表３および４における配列は、修飾配列またはコンジュゲートされた配列として説明されるが、本開示のＲＮＡｉ剤のＲＮＡ、例えば、本開示のｄｓＲＮＡは、修飾されていない、コンジュゲートされていない、または説明されるものとは異なって修飾もしくはコンジュゲートされている、表３および４において説明される配列のいずれか１つを含み得ることは理解されよう。例えば、本発明の薬剤のセンス鎖は、ＧａｌＮＡｃリガンドにコンジュゲートされてもよいが、これらの薬剤は、デリバリーをＣＮＳに誘導する部分、例えば、本明細書に記載されるようなＣ１６リガンドにコンジュゲートされてもよい。親油性リガンドは、本願に提供される位置のいずれに含まれてもよい。

【０２２８】
当業者は、約２０から２３塩基対、例えば、２１塩基対の二重鎖構造を有するｄｓＲＮＡは、ＲＮＡ干渉の導入において特に有効であるとして歓迎されていることを十分に意識している［Elbashir et al., (2001) EMBO J., 20:6877-6888］。しかしながら、他のものは、より短いまたはより長いＲＮＡ二重鎖構造も有効であり得ることを分かっている［Chu and Rana (2007) RNA 14:1714-1719; Kim et al. (2005) Nat Biotech 23:222-226］。上記において説明した実施形態において、本明細書において提供されるオリゴヌクレオチド配列の性質により、本明細書において説明されるｄｓＲＮＡは、最小２１ヌクレオチド長さの少なくとも１つの鎖を含むことができる。片端または両端のいくつかのヌクレオチドを差し引いたより短い二重鎖は、上記において説明されるｄｓＲＮＡと比較して、同様に有効であり得ることは、合理的に予想することができる。したがって、本明細書に提供される配列の１つに由来する少なくとも１５、１６、１７、１８、１９、２０個、またはそれ以上の連続するヌクレオチドの配列を有し、かつ本明細書の実施例に提供されるような、例えば、ＢＥ（２）－Ｃ細胞またはＤＵ１４５細胞および１０ｎＭの濃度のＲＮＡ剤を用いたインビトロアッセイならびにＰＣＲアッセイを使用したときに、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現を阻害するそれらの能力が、全長配列を含むｄｓＲＮＡから１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、または５０％阻害以下異なるｄｓＲＮＡは、本発明の開示内であることが企図される。一部の実施形態において、全長配列を含むｄｓＲＮＡからの阻害は、一次マウス肝細胞を用いたインビトロアッセイを使用して測定される。

【０２２９】
加えて、本明細書において説明されるＲＮＡ剤は、ＲＩＳＣ媒介切断を受けやすいＡＢＬＩＭ３　ｍＲＮＡ転写物の部位を特定する。そのため、本開示は、この部位内を標的化するＲＮＡｉ剤をさらに特徴とする。本明細書において使用される場合、ＲＮＡｉ剤は、特定の部位内のいずれかにおけるｍＲＮＡ転写物の切断を促進する場合、ｍＲＮＡ転写物の特定の部位内を標的化すると言われる。そのようなＲＮＡｉ剤は、概して、ＡＢＬＩＭ３遺伝子における選択された配列に隣接する領域から取られた追加のヌクレオチド配列にカップリングした本明細書において提供される配列の１つから、少なくとも約１５のヌクレオチド、好ましくは少なくとも１９のヌクレオチドを含むであろう。

【０２３０】
ＩＩＩ．本開示の修飾されたＲＮＡｉ剤
一実施形態において、本開示のＲＮＡｉ剤のＲＮＡ、例えば、ｄｓＲＮＡは、未修飾であり、修飾されたヌクレオチド、例えば、当技術分野で公知であり、本明細書に記載される化学修飾またはコンジュゲーションを含まない。一実施形態において、本開示のＲＮＡｉ剤のＲＮＡ、例えば、ｄｓＲＮＡは、安定性または他の有益な特徴を増強するように化学修飾される。本開示のある特定の実施形態において、本開示のＲＮＡｉ剤のヌクレオチドの実質的に全てが修飾されている。本開示の他の実施形態において、本開示のＲＮＡｉ剤のヌクレオチドの全てが修飾されている。「ヌクレオチドの実質的に全てが修飾されている」本開示のＲＮＡｉ剤は、全体的にではないが大部分が修飾され、５、４、３、２または未修飾ヌクレオチドを含み得る。本開示のさらに他の実施形態において、本開示のＲＮＡｉ剤は、５、４、３、２または１つの修飾されたヌクレオチドを含み得る。

【０２３１】
本開示において特徴とされる核酸は、当技術分野で十分に確立された方法、例えば、参照により本明細書に組み込まれる"Current protocols in nucleic acid chemistry," Beaucage, S.L. et al. (Edrs.), John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, USAに記載されるものによって合成または修飾できる。修飾には、例えば、末端修飾、例えば、５’端修飾（リン酸化、コンジュゲーション、逆連結）または３’端修飾（コンジュゲーション、ＤＮＡヌクレオチド、逆連結など）、塩基修飾、例えば、安定化塩基、不安定化塩基もしくは拡大されたレパートリーのパートナーと塩基対形成する塩基との置き換え、塩基の除去（脱塩基ヌクレオチド）またはコンジュゲートされた塩基、糖修飾（例

えば、２’位置または４’位置での）もしくは糖の置き換え、またはホスホジエステル結合の修飾もしくは置き換えを含む骨格修飾が含まれる。本明細書に記載される実施形態において有用なＲＮＡｉ剤の具体例として、それだけには限らないが、修飾された骨格を含有する、または天然ヌクレオシド間連結を含有しないＲＮＡが挙げられる。修飾された骨格を有するＲＮＡとして、中でも、骨格中にリン原子を有さないものが挙げられる。本明細書の目的上、時には、当技術分野で言及されるように、そのヌクレオシド間骨格中にリン原子を有さない修飾されたＲＮＡもまた、オリゴヌクレオシドであると考えることができる。一部の実施形態において、修飾されたＲＮＡｉ剤は、そのヌクレオシド間骨格中にリン原子を有する。

【０２３２】

修飾されたＲＮＡ骨格として、例えば、ホスホロチオエート、キラルホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホトリエステル、アミノアルキルホスホトリエステル、メチルホスホネートならびに３’－アルキレンホスホネートおよびキラルホスホネートを含む他のアルキルホスホネート、ホスフィネート、３’－アミノホスホルアミダートおよびアミノアルキルホスホロアミデートを含むホスホロアミデート、チオノホスホロアミデート、チオノアルキルホスホネート、チオノアルキルホスホトリエステルおよび通常の３’－５’連結を有するボラノホスフェート、２’－５’連結されたこれらの類似体およびヌクレオシド単位の隣接する対が、３’－５’から５’－３’または２’－５’から５’－２’に連結される逆極性を有するものが挙げられる。種々の塩、混合塩および遊離酸形態も含まれる。本発明の一部の実施形態において、本発明のｄｓＲＮＡ剤は、遊離酸形態である。本発明の他の実施形態において、本発明のｄｓＲＮＡ剤は、塩形態である。一実施形態において、本発明のｄｓＲＮＡ剤は、ナトリウム塩形態である。ある特定の実施形態において、本発明のｄｓＲＮＡ剤がナトリウム塩形態である場合には、ナトリウムイオンが、薬剤中に存在するホスホジエステルおよび／またはホスホロチオエート基の実質的に全てに対する対イオンとして薬剤中に存在する。ホスホジエステルおよび／またはホスホロチオエート連結の実質的に全てがナトリウム対イオンを有する薬剤は、５、４、３、２または１つ以下の、ナトリウム対イオンを有さないホスホジエステルおよび／またはホスホロチオエート連結を含む。一部の実施形態において、本発明のｄｓＲＮＡ剤がナトリウム塩形態である場合は、ナトリウムイオンは、薬剤中に存在するホスホジエステルおよび／またはホスホロチオエート基の全ての対イオンとして存在する。

【０２３３】

上記のリン含有連結の調製を教示する代表的な米国特許として、それだけには限らないが、米国特許第３，６８７，８０８号、同４，４６９，８６３号、同４，４７６，３０１号、同５，０２３，２４３号、同５，１７７，１９５号、同５，１８８，８９７号、同５，２６４，４２３号、同５，２７６，０１９号、同５，２７８，３０２号、同５，２８６，７１７号、同５，３２１，１３１号、同５，３９９，６７６号、同５，４０５，９３９号、同５，４５３，４９６号、同５，４５５，２３３号、同５，４６６，６７７号、同５，４７６，９２５号、同５，５１９，１２６号、同５，５３６，８２１号、同５，５４１，３１６号、同５，５５０，１１１号、同５，５６３，２５３号、同５，５７１，７９９号、同５，５８７，３６１号、同５，６２５，０５０号、同６，０２８，１８８号、同６，１２４，４４５号、同６，１６０，１０９号、同６，１６９，１７０号、同６，１７２，２０９号、同６，２３９，２６５号、同６，２７７，６０３号、同６，３２６，１９９号、同６，３４６，６１４号、同６，４４４，４２３号、同６，５３１，５９０号、同６，５３４，６３９号、同６，６０８，０３５号、同６，６８３，１６７号、同６，８５８，７１５号、同６，８６７，２９４号、同６，８７８，８０５号、同７，０１５，３１５号、同７，０４１，８１６号、同７，２７３，９３３号、同７，３２１，０２９号および米国再発行特許第ＲＥ３９４６４号が挙げられ、それらの各々の内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２３４】

中にリン原子を含まない修飾されたＲＮＡ骨格は、短鎖アルキルもしくはシクロアルキ

ルヌクレオシド間連結、混合ヘテロ原子およびアルキルもしくはシクロアルキルヌクレオシド間連結または１つもしくは複数の短鎖ヘテロ原子もしくは複素環式ヌクレオシド間連結によって形成される骨格を有する。これらとして、モルホリノ連結（幾分かはヌクレオシドの糖部分から形成される）、シロキサン骨格、スルフィド、スルホキシドおよびスルホン骨格、ホルムアセチルおよびチオホルムアセチル骨格、メチレンホルムアセチルおよびチオホルムアセチル骨格、アルケン含有骨格、スルファメート骨格、メチレンイミノおよびメチレンヒドラジノ骨格、スルホネートおよびスルホンアミド骨格、アミド骨格を有するものならびに混合Ｎ、Ｏ、ＳおよびＣＨ$_2$構成成分部分を有する他のものが挙げられる。

【０２３５】

上記のオリゴヌクレオシドの調製を教示する代表的な米国特許として、それだけには限らないが、米国特許第５，０３４，５０６号、同５，１６６，３１５号、同５，１８５，４４４号、同５，２１４，１３４号、同５，２１６，１４１号、同５，２３５，０３３号、同５，６４，５６２号、同５，２６４，５６４号、同５，４０５，９３８号、同５，４３４，２５７号、同５，４６６，６７７号、同５，４７０，９６７号、同５，４８９，６７７号、同５，５４１，３０７号、同５，５６１，２２５号、同５，５９６，０８６号、同５，６０２，２４０号、同５，６０８，０４６号、同５，６１０，２８９号、同５，６１８，７０４号、同５，６２３，０７０号、同５，６６３，３１２号、同５，６３３，３６０号、同５，６７７，４３７号および同５，６７７，４３９号が挙げられ、それらの各々の内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２３６】

他の実施形態において、ＲＮＡｉ剤での使用に適したＲＮＡミメティックが企図され、このＲＮＡミメティックでは、ヌクレオチド単位の糖とヌクレオシド間連結の両方、すなわち骨格が代替の基で置き換えられている。核酸塩基単位は、適切な核酸標的化合物とのハイブリダイゼーションのために維持される。１つのこのようなオリゴマー化合物、優れたハイブリダイゼーション特性を有すると分かっているＲＮＡミメティックは、ペプチド核酸（ＰＮＡ）と呼ばれる。ＰＮＡ化合物では、ＲＮＡの糖骨格は、アミド含有骨格、特に、アミノエチルグリシン骨格と置き換えられている。核酸塩基は、保持され、直接的または間接的に骨格のアミド部分のアザ窒素原子に結合される。ＰＮＡ化合物の調製を教示する代表的な米国特許として、それだけには限らないが、米国特許第５，５３９，０８２号、同５，７１４，３３１号および同５，７１９，２６２号が挙げられ、それらの各々の内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。本開示のＲＮＡｉ剤において使用するために適したさらなるＰＮＡ化合物は、例えば、Nielsen et al., Science, 1991, 254, 1497-1500に記載されている。

【０２３７】

本開示において特徴とされるいくつかの実施形態には、ホスホロチオエート骨格を有するＲＮＡおよびヘテロ原子骨格、特に、上記で参照された米国特許第５，４８９，６７７号の－－ＣＨ$_2$－－ＮＨ－－ＣＨ$_2$－、－－ＣＨ$_2$－－Ｎ（ＣＨ$_3$）－－Ｏ－－ＣＨ$_2$－－［メチレン（メチルイミノ）またはＭＭＩ骨格として知られる］、－－ＣＨ$_2$－－Ｏ－－Ｎ（ＣＨ$_3$）－－ＣＨ$_2$－－、－－ＣＨ$_2$－－Ｎ（ＣＨ$_3$）－－Ｎ（ＣＨ$_3$）－－ＣＨ$_2$－－および－－Ｎ（ＣＨ$_3$）－－ＣＨ$_2$－－ＣＨ$_2$－－および上記で参照された米国特許第５，６０２，２４０号のアミド骨格を有するオリゴヌクレオシドが含まれる。一部の実施形態において、本明細書において特徴とされるＲＮＡは、上記で参照されたＵＳ５，０３４，５０６のモルホリノ骨格構造を有する。天然のホスホジエステル骨格は、－Ｏ－Ｐ（Ｏ）（ＯＨ）－ＯＣＨ$_2$－として表すことができる。

【０２３８】

修飾されたＲＮＡはまた、１つまたは複数の置換された糖部分を含有し得る。本明細書において特徴とされるＲＮＡｉ剤、例えば、ｄｓＲＮＡは、２’位置に以下：ＯＨ；Ｆ；Ｏ－、Ｓ－もしくはＮ－アルキル；Ｏ－、Ｓ－もしくはＮ－アルケニル；Ｏ－、Ｓ－もしくはＮ－アルキニルまたはＯ－アルキル－Ｏ－アルキルのうち１つを含む場合があり、ア

ルキル、アルケニルおよびアルキニルは、置換または非置換Ｃ１～Ｃ１０アルキルまたはＣ２～Ｃ１０アルケニルおよびアルキニルであり得る。例示的な適した修飾として、Ｏ［（ＣＨ２）ｎＯ］ｍＣＨ３、Ｏ（ＣＨ２）．ｎＯＣＨ３、Ｏ（ＣＨ２）ｎＮＨ２、Ｏ（ＣＨ２）ｎＣＨ３、Ｏ（ＣＨ２）ｎＯＮＨ２およびＯ（ＣＨ２）ｎＯＮ［（ＣＨ２）ｎＣＨ３）］２が挙げられ、式中、ｎおよびｍは、１～約１０である。他の実施形態において、ｄｓＲＮＡは、２’位置に以下：Ｃ１～Ｃ１０アルキル、置換アルキル、アルカリル、アラルキル、Ｏ－アルカリルまたはＯ－アラルキル、ＳＨ、ＳＣＨ３、ＯＣＮ、Ｃｌ、Ｂｒ、ＣＮ、ＣＦ３、ＯＣＦ３、ＳＯＣＨ３、ＳＯ２ＣＨ３、ＯＮＯ２、ＮＯ２、Ｎ３、ＮＨ２、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルカリル、アミノアルキルアミノ、ポリアルキルアミノ、置換シリル、ＲＮＡ切断基、レポーター基、干渉物質、ＲＮＡｉ剤の薬物動態特性を改善するための基またはＲＮＡｉ剤の薬動力学特性を改善するための基および同様の特性を有する他の置換基のうち１つを含む。一部の実施形態において、修飾は、２’－メトキシエトキシ（２’－Ｏ－（２－メトキシエチル）または２’－ＭＯＥとしても知られる２’－Ｏ－－ＣＨ２ＣＨ２ＯＣＨ３）（Martin et al., Helv. Chim. Acta, 1995, 78:486-504）、すなわち、アルコキシ－アルコキシ基を含む。別の例示的修飾として、２’－ジメチルアミノオキシエトキシ、すなわち、本明細書において以下に実施例において記載されるような２’－ＤＭＡＯＥとしても知られるＯ（ＣＨ２）２ＯＮ（ＣＨ３）２基および２’－ジメチルアミノエトキシエトキシ（２’－Ｏ－ジメチルアミノエトキシエチルまたは２’－ＤＭＡＥＯＥとしても当技術分野で公知の）、すなわち、２’－Ｏ－－ＣＨ２－－Ｏ－－ＣＨ２－－Ｎ（ＣＨ３）２がある。さらなる例示的修飾として、５’－Ｍｅ－２’－Ｆヌクレオチド、５’－Ｍｅ－２’－ＯＭｅヌクレオチド、５’－Ｍｅ－２’－デオキシヌクレオチド（これら３つのファミリー中のＲおよびＳ異性体の両方）、２’－アルコキシアルキルおよび２’－ＮＭＡ（Ｎ－メチルアセトアミド）が挙げられる。

【０２３９】

他の修飾として、２’－メトキシ（２’－ＯＣＨ３）、２’－アミノプロポキシ（２’－ＯＣＨ２ＣＨ２ＣＨ２ＮＨ２）、２’－Ｏ－ヘキサデシルおよび２’－フルオロ（２’－Ｆ）が挙げられる。同様の修飾はまた、ＲＮＡｉ剤のＲＮＡ上の他の位置、特に、３’末端ヌクレオチド上または２’－５’連結ｄｓＲＮＡ中の糖の３’位置および５’末端ヌクレオチドの５’位置でも行うことができる。ＲＮＡｉ剤はまた、糖ミメティック、例えば、ペントフラノシル糖の代わりにシクロブチル部分を有し得る。このような修飾された糖構造の調製を教示する代表的な米国特許として、それだけには限らないが、米国特許第４，９８１，９５７号、同５，１１８，８００号、同５，３１９，０８０号、同５，３５９，０４４号、同５，３９３，８７８号、同５，４４６，１３７号、同５，４６６，７８６号、同５，５１４，７８５号、同５，５１９，１３４号、同５，５６７，８１１号、同５，５７６，４２７号、同５，５９１，７２２号、同５，５９７，９０９号、同５，６１０，３００号、同５，６２７，０５３号、同５，６３９，８７３号、同５，６４６，２６５号、同５，６５８，８７３号、同５，６７０，６３３号および同５，７００，９２０号が挙げられ、それらのうちある特定のものは、本出願と共同所有されている。前記のものの各々の内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２４０】

本開示のＲＮＡｉ剤はまた、核酸塩基（当技術分野では簡単に「塩基」と呼ばれることも多い）修飾または置換を含み得る。本明細書において使用される場合、「未修飾の」または「天然の」核酸塩基には、プリン塩基アデニン（Ａ）およびグアニン（Ｇ）、ピリミジン塩基チミン（Ｔ）、シトシン（Ｃ）およびウラシル（Ｕ）が含まれる。修飾された核酸塩基には、他の合成および天然核酸塩基、例えば、５－メチルシトシン（５－ｍｅ－Ｃ）、５－ヒドロキシメチルシトシン、キサンチン、ヒポキサンチン、２－アミノアデニン、アデニンおよびグアニンの６－メチルおよび他のアルキル誘導体、アデニンおよびグアニンの２－プロピルおよび他のアルキル誘導体、２－チオウラシル、２－チオチミンおよび２－チオシトシン、５－ハロウラシルおよびシトシン、５－プロピニルウラシルおよびシトシン、６－アゾウラシル、シトシンおよびチミン、５－ウラシル（シュードウラシル

）、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－ヒドロキシルおよび（ａｎａｌ）他の８－置換アデニンおよびグアニン、５－ハロ、特に、５－ブロモ、５－トリフルオロメチルおよび他の５－置換ウラシルおよびシトシン、７－メチルグアニンおよび７－メチルアデニン、８－アザグアニンおよび８－アザアデニン、７－デアザグアニンおよび７－デアザアデニン（ｄａａｚａａｄｅｎｉｎｅ）ならびに３－デアザグアニンおよび３－デアザアデニンが含まれる。さらなる修飾された核酸塩基には、米国特許第３，６８７，８０８号に開示されるもの、Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine, Herdewijn, P. ed. Wiley-VCH, 2008において開示されるもの、The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering, pages 858-859, Kroschwitz, J. L, ed. John Wiley & Sons, 1990において開示されるもの、Englisch et al., (1991) Angewandte Chemie, International Edition, 30:613によって開示されるものおよびSanghvi, Y S., Chapter 15, dsRNA Research and Applications, pages 289-302, Crooke, S. T. and Lebleu, B., Ed., CRC Press, 1993によって開示されるものが含まれる。これらの修飾核酸塩基のうちある特定のものは、本開示において特徴とされるオリゴマー化合物の結合親和性を増大するために特に有用である。これらには、５－置換ピリミジン、６－アザピリミジンならびに２－アミノプロピルアデニン、５－プロピニルウラシルおよび５－プロピニルシトシンを含むＮ－２、Ｎ－６およびＯ－６置換プリンが含まれる。５－メチルシトシン置換は、核酸二重鎖安定性を０．６～１．２℃だけ増大すると分かっており（Sanghvi, Y. S., Crooke, S. T. and Lebleu, B., Eds., dsRNA Research and Applications, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278）、さらにより詳しくは、２’－Ｏ－メトキシエチル糖修飾と組み合わせた場合に例示的塩基置換である。

【０２４１】

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ある特定のものの調製を教示する代表的な米国特許として、それだけには限らないが、上記の米国特許第３，６８７，８０８号、同４，８４５，２０５号、同５，１３０，３０２号、同５，１３４，０６６号、同５，１７５，２７３号、同５，３６７，０６６号、同５，４３２，２７２号、同５，４５７，１８７号、同５，４５９，２５５号、同５，４８４，９０８号、同５，５０２，１７７号、同５，５２５，７１１号、同５，５５２，５４０号、同５，５８７，４６９号、同５，５９４，１２１号、同５，５９６，０９１号、同５，６１４，６１７号、同５，６８１，９４１号、同５，７５０，６９２号、同６，０１５，８８６号、同６，１４７，２００号、同６，１６６，１９７号、同６，２２２，０２５号、同６，２３５，８８７号、同６，３８０，３６８号、同６，５２８，６４０号、同６，６３９，０６２号、同６，６１７，４３８号、同７，０４５，６１０号、同７，４２７，６７２号および同７，４９５，０８８号が挙げられ、それらの各々の内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２４２】

本開示のＲＮＡｉ剤をまた、１つまたは複数の二環式糖部分を含むように修飾できる。「二環式糖」は、２つの原子を架橋することによって修飾されたフラノシル環である。「二環式ヌクレオシド」（「ＢＮＡ」）は、糖環の２つの炭素原子を接続し、それによって二環式環構造を形成する架橋を含む糖部分を有するヌクレオシドである。ある特定の実施形態において、架橋は、糖環の４’－炭素と２’－炭素を接続する。したがって、一部の実施形態において、本開示の薬剤は、１つまたは複数のロックド核酸（ＬＮＡ）を含み得る。ロックド核酸は、リボース部分が２’および４’炭素を接続する追加の架橋を含む、修飾されたリボース部分を有するヌクレオチドである。言い換えれば、ＬＮＡは、４’－ＣＨ２－Ｏ－２’架橋を含む二環式糖部分を含むヌクレオチドである。この構造は、リボースを３’－エンド構造立体配座に効率的に「ロックする」。ｓｉＲＮＡへのロックド核酸の付加は、血清におけるｓｉＲＮＡ安定性を増大し、オフターゲット効果を低減すると分かっている［Elmen, J. et al., (2005) Nucleic Acids Research 33(1):439-447

、Mook, OR. et al., (2007) Mol Canc Ther 6(3):833-843、Grunweller, A. et al., (2003) Nucleic Acids Research 31(12):3185-3193］。本開示のポリヌクレオチドにおいて使用するための二環式ヌクレオシドの例として、制限するものではないが、４’と２’リボシル環原子の間の架橋を含むヌクレオシドが挙げられる。ある特定の実施形態において、本開示のアンチセンスポリヌクレオチド剤として、４’から２’への架橋を含む１つまたは複数の二環式ヌクレオシドが挙げられる。このような４’から２’へ架橋された二環式ヌクレオシドの例として、それだけには限らないが、４’－（ＣＨ２）－Ｏ－２’（ＬＮＡ）、４’－（ＣＨ２）－Ｓ－２’、４’－（ＣＨ２）２－Ｏ－２’（ＥＮＡ）、４’－ＣＨ（ＣＨ３）－Ｏ－２’（「拘束エチル」または「ｃＥｔ」とも呼ばれる）および４’－ＣＨ（ＣＨ２ＯＣＨ３）－Ｏ－２’（およびその類似体、例えば、米国特許第７，３９９，８４５号を参照されたい）、４’－Ｃ（ＣＨ３）（ＣＨ３）－Ｏ－２’（およびその類似体、例えば、米国特許第８，２７８，２８３号を参照されたい）、４’－ＣＨ２－Ｎ（ＯＣＨ３）－２’（およびその類似体、例えば、米国特許第８，２７８，４２５号を参照されたい）、４’－ＣＨ２－Ｏ－Ｎ（ＣＨ３）－２’（例えば、米国特許公開第２００４／０１７１５７０号を参照されたい）、４’－ＣＨ２－Ｎ（Ｒ）－Ｏ－２’（式中、Ｒは、Ｈ、Ｃ１～Ｃ１２アルキルまたは保護基である）（例えば、米国特許第７，４２７，６７２号を参照されたい）、４’－ＣＨ２－Ｃ（Ｈ）（ＣＨ３）－２’（例えば、Chattopadhyaya et al., J. Org. Chem., 2009, 74, 118-134を参照されたい）および４’－ＣＨ２－Ｃ（－ＣＨ２）－２’（およびその類似体、例えば、米国特許第８，２７８，４２６号を参照されたい）が挙げられる。前記の各々の内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２４３】

ロックド核酸ヌクレオチドの調製を教示するさらなる代表的な米国特許および米国特許公開として、それだけには限らないが、以下：米国特許第６，２６８，４９０号、同６，５２５，１９１号、同６，６７０，４６１号、同６，７７０，７４８号、同６，７９４，４９９号、同６，９９８，４８４号、同７，０５３，２０７号、同７，０３４，１３３号、同７，０８４，１２５号、同７，３９９，８４５号、同７，４２７，６７２号、同７，５６９，６８６号、同７，７４１，４５７号、同８，０２２，１９３号、同８，０３０，４６７号、同８，２７８，４２５号、同８，２７８，４２６号、同８，２７８，２８３号、ＵＳ２００８／００３９６１８およびＵＳ２００９／００１２２８１が挙げられ、それらの各々の内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２４４】

例えば、α－Ｌ－リボフラノースおよびβ－Ｄ－リボフラノースを含む１つまたは複数の立体化学的糖立体配置を有する前記の二環式ヌクレオシドのいずれも、調製できる（ＷＯ９９／１４２２６を参照されたい）。

【０２４５】

本開示のＲＮＡｉ剤をまた、１または複数の拘束エチルヌクレオチドを含むように修飾できる。本明細書において使用される場合、「拘束エチルヌクレオチド」または「ｃＥｔ」は、４’－ＣＨ（ＣＨ３）－０～２’架橋を含む二環式糖部分を含むロックド核酸である。一実施形態において、拘束エチルヌクレオチドは、Ｓ立体配座にあり、本明細書において「Ｓ－ｃＥｔ」と呼ばれる。

【０２４６】

本開示のＲＮＡｉ剤はまた、１つまたは複数の「立体配座制限ヌクレオチド」（「ＣＲＮ」）を含み得る。ＣＲＮは、リボースのＣ２’とＣ４’炭素を、またはリボースのＣ３と－Ｃ５’炭素を接続するリンカーを有するヌクレオチド類似体である。ＣＲＮは、リボース環を安定な立体配座にロックし、ｍＲＮＡに対するハイブリダイゼーション親和性を増大する。リンカーは、酸素を安定性および親和性のために最適な位置に配置するのに十分な長さのものであり、その結果、リボース環パッカリングを少なくなる。

【０２４７】

上記のＣＲＮのある特定のものの調製を教示する代表的な刊行物として、それだけには

限らないが、ＵＳ２０１３／０１９０３８３およびＷＯ２０１３／０３６８６８が挙げられ、それらの各々の内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２４８】

一部の実施形態において、本開示のＲＮＡｉ剤は、ＵＮＡ（非ロックド核酸）ヌクレオチドである１つまたは複数のモノマーを含む。ＵＮＡは、非ロックド非環式核酸であり、糖の結合のいずれも除去されており、非ロックド「糖」残基を形成する。一例では、ＵＮＡはまた、Ｃ１’－Ｃ４’の間の結合（すなわち、Ｃ１’とＣ４’炭素の間の共有結合の炭素－酸素－炭素結合）が除去されているモノマーも包含する。別の例では、糖のＣ２’－Ｃ３’結合（すなわち、Ｃ２’とＣ３’炭素の間の共有結合の炭素－炭素結合）が除去されている［参照により本明細書に組み込まれる、Nuc. Acids Symp. Series, 52, 133-134 (2008)およびFluiter et al., Mol. Biosyst., 2009, 10, 1039を参照されたい］。

【０２４９】

ＵＮＡの調製を教示する代表的な米国の刊行物として、それだけには限らないが、ＵＳ８，３１４，２２７および米国特許公開第２０１３／００９６２８９号、同２０１３／００１１９２２号および同２０１１／０３１３０２０号が挙げられ、それらの各々の内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２５０】

本開示のＲＮＡｉ剤は、１つまたは複数の「シクロヘキセン核酸」または（「ＣｅＮＡ」）も含んでもよい。ＣｅＮＡは、ＤＮＡのフラノース部分がシクロヘキセン環に置き換えられたヌクレオチド類似体である。ＤＮＡ鎖にシクロヘキセニルヌクレオシドを組み込むと、ＤＮＡ／ＲＮＡハイブリッドの安定性が増大する。ＣｅＮＡは血清中での分解に対して安定であり、ＣｅＮＡ／ＲＮＡハイブリッドは、大腸菌（Ｅ．Ｃｏｌｉ）ＲＮａｓｅＨを活性化し、それによってＲＮＡ鎖を切断することができる。（参照により本明細書に組み込まれる、Wang et al., Am. Chem. Soc. 2000, 122, 36, 8595-8602を参照されたい）。

【０２５１】

ＲＮＡ分子の末端への潜在的に安定化する修飾として、Ｎ－（アセチルアミノカプロイル）－４－ヒドロキシプロリノール（Ｈｙｐ－Ｃ６－ＮＨＡｃ）、Ｎ－（カプロイル－４－ヒドロキシプロリノール（Ｈｙｐ－Ｃ６）、Ｎ－（アセチル－４－ヒドロキシプロリノール（Ｈｙｐ－ＮＨＡｃ）、チミジン－２’－Ｏ－デオキシチミジン（エーテル）、Ｎ－（アミノカプロイル）－４－ヒドロキシプロリノール（Ｈｙｐ－Ｃ６－アミノ）、２－ドコサノイル－ウリジン－３”－ホスフェート、逆塩基ｄＴ（ｉｄＴ）および他のものを挙げることができる。この修飾の開示内容は、ＷＯ２０１１／００５８６１に見出すことができる。

【０２５２】

本開示のＲＮＡｉ剤の他の修飾として、５’ホスフェートまたは５’ホスフェートミミック、例えば、ＲＮＡｉ剤のアンチセンス鎖上の５’末端ホスフェートまたはホスフェートミミックが挙げられる。適したホスフェートミミックは、例えば、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれるＵＳ２０１２／０１５７５１１に開示されている。一実施形態において、本発明の二本鎖ＲＮＡｉ剤は、アンチセンス鎖の５’ヌクレオチドに５’ホスフェートまたは５’ホスフェートミミックをさらに含む。別の実施形態において、二本鎖ＲＮＡｉ剤は、アンチセンス鎖の５’ヌクレオチドに５’ホスフェートミミックをさらに含む。特定の実施形態において、５’ホスフェートミミックは、５’－ビニルホスホネート（５’－ＶＰ）である。一実施形態において、ホスフェートミミックは、５’－シクロプロピルホスホネート（ＶＰ）である。一部の実施形態において、二本鎖ｉＲＮＡ剤のアンチセンス鎖の５’端は、５’－ビニルホスホネート（ＶＰ）を含有しない。

【０２５３】

一実施形態において、修飾されたヌクレオチドの少なくとも１つは、デオキシヌクレオチド、２’－Ｏ－メチル修飾されたヌクレオチド、２’－フルオロ修飾されたヌクレオチド、２’－デオキシ修飾されたヌクレオチド、グリコール修飾されたヌクレオチド（ＧＮＡ

）、例えば、Ｇｇｎ、Ｃｇｎ、Ｔｇｎ、またはＡｇｎ、２’ホスフェートを有するヌクレオチド、例えば、Ｇ２ｐ、Ｃ２ｐ、Ａ２ｐ、またはＵ２ｐ、およびビニルホスホネートヌクレオチド；ならびにそれらの組合せからなる群から選択される。他の実施形態において、表３および４の二重鎖の各々は、本発明の開示の別の二本鎖ｉＲＮＡ剤をもたらすために個々に修飾されてもよい。一例では、各センス二重鎖の３’末端は、３’末端Ｌ９６リガンドを除去し、３つの３’末端ヌクレオチド間の２つのホスホジエステルヌクレオチド間連結をホスホロチオエートヌクレオチド間連結と交換することによって修飾されてもよい。すなわち、以下の式：

５’－N_1－…－$N_{n-2}N_{n-1}N_nL96$　３’

のセンス配列の３つの３’末端ヌクレオチド（Ｎ）は、

５’－N_1－…－$N_{n-2}sN_{n-1}sN_n$　３’

に置き換えられてもよく、その一方で、アンチセンス配列を変えないままにしておくと、本発明の開示の別の二本鎖ｉＲＮＡ剤がもたらされる。

【０２５４】

Ａ．本開示のモチーフを含む修飾されたＲＮＡｉ剤

本開示のある特定の態様では、本開示の二本鎖ＲＮＡｉ剤は、例えば、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれるＷＯ２０１３／０７５０３５において開示されるような化学修飾を有する薬剤を含む。本明細書に、およびＷＯ２０１３／０７５０３５において示されるように、３連続ヌクレオチド上の３つの同一修飾の１つまたは複数のモチーフを、切断部位でまたはその付近でＲＮＡｉ剤のセンス鎖またはアンチセンス鎖中に導入することによって優れた結果を得ることができる。一部の実施形態において、ＲＮＡｉ剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖は、そうでなければ完全に修飾され得る。これらのモチーフの導入は、存在する場合にはセンスまたはアンチセンス鎖の修飾パターンを妨げる。ＲＮＡｉ剤を、親油性リガンド、例えば、センス鎖上の例えば、Ｃ１６リガンドとコンジュゲートしてもよい。ＲＮＡｉ剤を、例えば、アンチセンス鎖の１つまたは複数の残基で（Ｓ）－グリコール核酸（ＧＮＡ）修飾で修飾してもよい。得られたＲＮＡｉ剤は、優れた遺伝子サイレンシング活性を示す。

【０２５５】

したがって、本開示は、インビボで標的遺伝子（すなわち、ＡＢＬＩＭ３遺伝子）の発現を阻害可能な二本鎖ＲＮＡｉ剤を提供する。ＲＮＡｉ剤は、センス鎖およびアンチセンス鎖を含む。ＲＮＡｉ剤の各鎖は、１５～３０ヌクレオチド長であり得る。例えば、各鎖は、１６～３０ヌクレオチド長、１７～３０ヌクレオチド長、２５～３０ヌクレオチド長、２７～３０ヌクレオチド長、１７～２３ヌクレオチド長、１７～２１ヌクレオチド長、１７～１９ヌクレオチド長、１９～２５ヌクレオチド長、１９～２３ヌクレオチド長、１９～２１ヌクレオチド長、２１～２５ヌクレオチド長または２１～２３ヌクレオチド長であり得る。ある特定の実施形態において、各鎖は、１９～２３ヌクレオチド長である。

【０２５６】

センス鎖およびアンチセンス鎖は通常、「ＲＮＡｉ剤」とも本明細書において呼ばれる二重鎖の二本鎖ＲＮＡ（「ｄｓＲＮＡ」）を形成する。ＲＮＡｉ剤の二重鎖領域は、１５～３０ヌクレオチド対の長さであり得る。例えば、二重鎖領域は、１６～３０ヌクレオチド対の長さ、１７～３０ヌクレオチド対の長さ、２７～３０ヌクレオチド対の長さ、１７～２３ヌクレオチド対の長さ、１７～２１ヌクレオチド対の長さ、１７～１９ヌクレオチド対の長さ、１９～２５ヌクレオチド対の長さ、１９～２３ヌクレオチド対の長さ、１９～２１ヌクレオチド対の長さ、２１～２５ヌクレオチド対の長さまたは２１～２３ヌクレオチド対の長さであり得る。別の例では、二重鎖領域は、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６および２７ヌクレオチド長から選択される。別の実施形態において、二重鎖領域は、１９～２１ヌクレオチド対の長さである。

【０２５７】

一実施形態において、ＲＮＡｉ剤は、一方または両方の鎖の３’端、５’端または両端に１つまたは複数のオーバーハング領域またはキャッピング基を含有し得る。オーバーハン

グは、１～６ヌクレオチド長、例えば、２～６ヌクレオチド長、１～５ヌクレオチド長、２～５ヌクレオチド長、１～４ヌクレオチド長、２～４ヌクレオチド長、１～３ヌクレオチド長、２～３ヌクレオチド長または１～２ヌクレオチド長であり得る。別の実施形態において、ヌクレオチドオーバーハング領域は、２ヌクレオチド長である。オーバーハングは、一方の鎖が他方よりも長い結果または同一の長さの２つの鎖がねじれ形である結果であり得る。オーバーハングは、標的ｍＲＮＡとミスマッチを形成し得る、または標的化される遺伝子配列と相補的であり得る、または別の配列であり得る。また、第１のおよび第２の鎖を、例えば、ヘアピンを形成する追加の塩基によって、または他の非塩基リンカーによってつなぐこともできる。

【０２５８】

一実施形態において、ＲＮＡｉ剤のオーバーハング領域中のヌクレオチドは各々独立に、２’－糖修飾された、例えば、２－Ｆ、２’－Ｏ－メチル、チミジン（Ｔ）およびそれらの任意の組合せを含むがそれに限定されるわけではない、修飾されたまたは未修飾のヌクレオチドであり得る。

【０２５９】

例えば、ＴＴは、いずれかの鎖上のいずれかの末端のオーバーハング配列であり得る。オーバーハングは、標的ｍＲＮＡとミスマッチを形成し得る、または標的化される遺伝子配列と相補的であり得る、または別の配列であり得る。

【０２６０】

ＲＮＡｉ剤のセンス鎖、アンチセンス鎖または両鎖の５’－または３’－オーバーハングは、リン酸化され得る。一部の実施形態において、オーバーハング領域（複数可）は、２つのヌクレオチドの間にホスホロチオエートを有する２つのヌクレオチドを含有し、２つのヌクレオチドは、同一である場合も、異なる場合もある。一実施形態において、オーバーハングは、センス鎖、アンチセンス鎖または両鎖の３’端に存在する。一実施形態において、この３’－オーバーハングは、アンチセンス鎖中に存在する。一実施形態において、この３’－オーバーハングは、センス鎖中に存在する。

【０２６１】

ｄｓＲＮＡｉ剤は、その安定性全体に影響を及ぼすことなくＲＮＡｉの干渉活性を強化できる単一のオーバーハングのみを含有し得る。例えば、一本鎖オーバーハングは、センス鎖の３’末端に、あるいは、アンチセンス鎖の３’末端に位置し得る。ＲＮＡｉはまた、アンチセンス鎖の５’端（すなわちセンス鎖の３’端）に位置する平滑末端を有し得る、または逆も同じである。一般に、ＲＮＡｉのアンチセンス鎖は、３’端にヌクレオチドオーバーハングを有し、５’端は平滑である。理論に捉われようとは思わないが、非対称のアンチセンス鎖の５’端の平滑末端およびアンチセンス鎖の３’端オーバーハングは、ＲＩＳＣプロセスへのガイド鎖積み込みに好都合である。

【０２６２】

一実施形態において、ＲＮＡｉ剤は、両端が平滑末端化され、１９ヌクレオチドの長さであり、センス鎖は、５’端から位置７、８、および９の３連続ヌクレオチド上に３つの２’－Ｆ修飾を有する少なくとも１つのモチーフを含有する。アンチセンス鎖は、５’端から位置１１、１２、および１３の３連続ヌクレオチド上に３つの２’－Ｏ－メチル修飾を有する少なくとも１つのモチーフを含有する。

【０２６３】

別の実施形態において、ＲＮＡｉ剤は、両端が平滑末端化され、２０ヌクレオチドの長さであり、センス鎖は、５’端から位置８、９、および１０の３連続ヌクレオチド上の３つの２’－Ｆ修飾の少なくとも１つのモチーフを含有する。アンチセンス鎖は、５’端から位置１１、１２、および１３の３連続ヌクレオチド上の３つの２’－Ｏ－メチル修飾の少なくとも１つのモチーフを含有する。

【０２６４】

さらに別の実施形態において、ＲＮＡｉ剤は、両端が平滑末端化され、２１ヌクレオチドの長さであり、センス鎖は、５’端から位置９、１０、および１１の３連続ヌクレオチ

ド上の３つの２’－Ｆ修飾の少なくとも１つのモチーフを含有する。アンチセンス鎖は、５’端から位置１１、１２、および１３の３連続ヌクレオチド上の３つの２’－Ｏ－メチル修飾の少なくとも１つのモチーフを含有する。

【０２６５】

一実施形態において、ＲＮＡｉ剤は、２１ヌクレオチドのセンス鎖および２３ヌクレオチドのアンチセンス鎖を含み、センス鎖は、５’端から位置９、１０、および１１の３連続ヌクレオチド上の３つの２’－Ｆ修飾の少なくとも１つのモチーフを含有し、アンチセンス鎖は、５’端から位置１１、１２、および１３の３連続ヌクレオチド上の３つの２’－Ｏ－メチル修飾の少なくとも１つのモチーフを含有し、ＲＮＡｉ剤の一方の末端は、平滑であり、もう一方の末端は、２ヌクレオチドのオーバーハングを含む。好ましくは、２ヌクレオチドのオーバーハングは、アンチセンス鎖の３’端にある。

【０２６６】

２ヌクレオチドのオーバーハングがアンチセンス鎖の３’端にある場合には、アンチセンス鎖の末端の３つの３’－ヌクレオチドの間に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結がある場合があり、３つのヌクレオチドのうち２つは、オーバーハングヌクレオチドであり、３番目のヌクレオチドは、オーバーハングヌクレオチドの次の対形成されたヌクレオチドである。一実施形態において、ＲＮＡｉ剤は、センス鎖の５’端およびアンチセンス鎖の５’端の両方で末端の３つのヌクレオチドの間に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結をさらに有する。一実施形態において、モチーフの一部であるヌクレオチドを含むＲＮＡｉ剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖中のどのヌクレオチドも、修飾されたヌクレオチドである。一実施形態において、各残基は独立に、例えば、交互モチーフ中で２’－Ｏ－メチルまたは２’－フルオロで修飾されている。ＲＮＡｉ剤は、リガンド（例えば、親油性リガンド、適宜、Ｃ１６リガンド）をさらに含んでもよい。

【０２６７】

一実施形態において、ＲＮＡｉ剤は、センスおよびアンチセンス鎖を含み、センス鎖は、２５～３０ヌクレオチド残基の長さであり、５’末端ヌクレオチド（位置１）から開始して、第１の鎖の位置１～２３は、少なくとも８のリボヌクレオチドを含み、アンチセンス鎖は、３６～６６ヌクレオチド残基の長さであり、３’末端ヌクレオチドから開始して、センス鎖の位置１～２３と対形成する位置に少なくとも８のリボヌクレオチドを含んで、二本鎖を形成し、アンチセンス鎖の少なくとも３’末端ヌクレオチドは、センス鎖と対形成せず、最大６つの連続３’末端ヌクレオチドは、センス鎖と対形成せず、それによって、１～６ヌクレオチドの３’一本鎖オーバーハングを形成し、アンチセンス鎖の５’末端は、センス鎖と対形成しない１０～３０の連続ヌクレオチドを含み、それによって、１０～３０ヌクレオチドの一本鎖５’オーバーハングを形成し、少なくともセンス鎖５’末端および３’末端ヌクレオチドは、センスおよびアンチセンス鎖が最大相補性のためにアラインされる場合に、アンチセンス鎖のヌクレオチドと対形成される塩基であり、それによって、センスおよびアンチセンス鎖の間に実質的に二本鎖の領域を形成し、アンチセンス鎖は、アンチセンス鎖の長さの少なくとも１９リボヌクレオチドに沿って標的ＲＮＡと十分に相補的であり、二本鎖核酸が哺乳動物細胞中に導入される場合に標的遺伝子発現を低減させ、センス鎖は、３連続ヌクレオチド上の３つの２’－Ｆ修飾の少なくとも１つのモチーフを含有し、モチーフのうち少なくとも１つは、切断部位でまたはその付近で生じる。アンチセンス鎖は、切断部位にまたはその付近に３連続ヌクレオチド上の３つの２’－Ｏ－メチル修飾の少なくとも１つのモチーフを含有する。

【０２６８】

一実施形態において、ｄｓＲＮＡｉ剤は、センスおよびアンチセンス鎖を含み、ｄｓＲＮＡｉ剤は、少なくとも２５かつ多くとも２９ヌクレオチドである長さを有する第１の鎖と、多くとも３０ヌクレオチドである長さを有し、５’端から位置１１、１２、および１３の３連続ヌクレオチド上の３つの２’－Ｏ－メチル修飾の少なくとも１つのモチーフを有する第２の鎖とを含み、第１の鎖の３’端と、第２の鎖の５’端は平滑末端を形成し、第２の鎖は、第１の鎖よりもその３’端で１～４ヌクレオチド長く、二重鎖領域は、少なく

とも２５ヌクレオチド長であり、第２の鎖は、少なくとも１９ヌクレオチドの第２の鎖の長さに沿って標的ｍＲＮＡと十分に相補的であり、ＲＮＡｉ剤が哺乳動物細胞中に導入される場合に標的遺伝子発現を低減させ、ＲＮＡｉ剤のダイサー切断は、第２の鎖の３’端を含むｓｉＲＮＡを優先的にもたらし、それによって、哺乳動物において標的遺伝子の発現を低減する。適宜、ＲＮＡｉ剤は、リガンドをさらに含んでもよい。

【０２６９】

一実施形態において、ＲＮＡｉ剤のセンス鎖は、３連続ヌクレオチド上の３つの同一の修飾の少なくとも１つのモチーフを含有し、モチーフのうち１つは、センス鎖中の切断部位に生じる。

【０２７０】

一実施形態において、ＲＮＡｉ剤のアンチセンス鎖もまた、３連続ヌクレオチド上の３つの同一の修飾の少なくとも１つのモチーフを含有することができ、モチーフのうち１つは、アンチセンス鎖中の切断部位にまたはその付近に生じる。

【０２７１】

１７～２３ヌクレオチド長の二重鎖領域を有するＲＮＡｉ剤について、アンチセンス鎖の切断部位は通常、５’端からおよそ位置１０、１１および１２である。したがって、３つの同一の修飾のモチーフは、アンチセンス鎖の位置９、１０、および１１、位置１０、１１、および１２、位置１１、１２、および１３、位置１２、１３、および１４または位置１３、１４、および１５に生じる場合がある、数はアンチセンス鎖の５’端から最初のヌクレオチドから開始する、または数はアンチセンス鎖の５’端から二重鎖領域内の最初の対形成されたヌクレオチドから開始する。アンチセンス鎖中の切断部位はまた、５’端からのＲＮＡｉの二重鎖領域の長さに応じて変化し得る。

【０２７２】

ＲＮＡｉ剤のセンス鎖は、鎖の切断部位に３連続ヌクレオチド上の３つの同一の修飾の少なくとも１つのモチーフを含有し得る、アンチセンス鎖は、鎖の切断部位にまたはその付近に３連続ヌクレオチド上の３つの同一の修飾の少なくとも１つのモチーフを有し得る。センス鎖およびアンチセンス鎖がｄｓＲＮＡ二本鎖を形成する場合には、センス鎖およびアンチセンス鎖を、センス鎖上の３つのヌクレオチドの１つのモチーフおよびアンチセンス鎖上の３つのヌクレオチドの１つのモチーフが、少なくとも１つのヌクレオチド重複を有するように、すなわち、センス鎖中のモチーフの３つのヌクレオチドの少なくとも１つが、アンチセンス鎖中のモチーフの３つのヌクレオチドの少なくとも１つと塩基対を形成するように配列できる。あるいは、少なくとも２つのヌクレオチドが重複する場合がある、または３つのヌクレオチド全てが重複する場合がある。

【０２７３】

一実施形態において、ＲＮＡｉ剤のセンス鎖は、３連続ヌクレオチド上の３つの同一の修飾の２つ以上のモチーフを含有し得る。第１のモチーフは、鎖の切断部位にまたはその付近に生じる場合があり、他のモチーフは、ウイング修飾であり得る。本明細書において「ウイング修飾」という用語は、同一の鎖の切断部位のまたはその付近のモチーフから離れている鎖の別の部分に生じるモチーフを指す。ウイング修飾は、第１のモチーフに隣接しているか、または少なくとも１つもしくはより多くのヌクレオチドだけ離れている。モチーフが互いにすぐ隣接する場合には、モチーフの化学は、互いに別個であり、モチーフが１つまたは複数のヌクレオチドだけ離れている場合には、化学は、同一である場合も異なっている場合もある。２以上のウイング修飾が存在する場合もある。例えば、２つのウイング修飾が存在する場合には、各ウイング修飾は、切断部位にもしくはその付近にある第１のモチーフに対して１つの末端に、またはリードモチーフのいずれかの側に生じ得る。

【０２７４】

センス鎖と同様に、ＲＮＡｉ剤のアンチセンス鎖は、３連続ヌクレオチド上の３つの同一の修飾の２つ以上のモチーフを含有する場合があり、モチーフの少なくとも１つは鎖の切断部位にまたはその付近に生じる。このアンチセンス鎖はまた、センス鎖上に存在し得

るウイング修飾と同様の配列で１つまたは複数のウイング修飾を含有し得る。
【０２７５】
一実施形態において、ＲＮＡｉ剤のセンス鎖またはアンチセンス鎖上のウイング修飾は通常、鎖の３’端、５’端または両端に最初の１つまたは２つの末端ヌクレオチドを含まない。
【０２７６】
別の実施形態において、ＲＮＡｉ剤のセンス鎖またはアンチセンス鎖上のウイング修飾は通常、鎖の３’端、５’端または両端に二重鎖領域内の最初の１つまたは２つの対形成されるヌクレオチドを含まない。
【０２７７】
ＲＮＡｉ剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖が各々、少なくとも１つのウイング修飾を含有する場合には、ウイング修飾は、二重鎖領域の同一末端に入る場合があり、１、２または３つのヌクレオチドの重複を有する。
【０２７８】
ＲＮＡｉ剤のセンス鎖またはアンチセンス鎖が各々、少なくとも２つのウイング修飾を含有する場合には、センス鎖およびアンチセンス鎖を、１つの鎖に由来する２つの修飾が各々、二重鎖領域の１つの末端に入り、１、２または３つのヌクレオチドの重複を有し、１つの鎖に由来する２つの修飾が各々、二重鎖領域のもう一方の末端に入り、１、２または３つのヌクレオチドの重複を有し、２つの修飾１つの鎖がリードモチーフの各側に入り、二重鎖領域中に１、２または３つのヌクレオチドの重複を有するように配列できる。
【０２７９】
一実施形態において、ＲＮＡｉ剤は、標的との、二本鎖内のミスマッチ（複数可）またはそれらの組合せを含む。ミスマッチは、オーバーハング領域または二重鎖領域中に生じ得る。塩基対は、解離または融解を促進するその傾向に基づいてランク付けできる（例えば、特定の対形成の会合または解離の自由エネルギーで、最も簡単なアプローチは、個々の対に基づいて対を調べることであるが、次の隣接分析または同様の分析も使用できる）。解離の促進の点では：Ａ：ＵはＧ：Ｃを上回って好ましく、Ｇ：ＵはＧ：Ｃを上回って好ましく、Ｉ：ＣはＧ：Ｃを上回って好ましい（Ｉ＝イノシン）。ミスマッチ、例えば、非正準対形成または正準対形成以外のもの（本明細書において別の場所で記載されるような）は、正準（Ａ：Ｔ、Ａ：Ｕ、Ｇ：Ｃ）対形成を上回って好ましく、ユニバーサル塩基を含む対形成は正準対形成を上回って好ましい。
【０２８０】
一実施形態において、ＲＮＡｉ剤は、二本鎖の５’端でのアンチセンス鎖の解離を促進するために、Ａ：Ｕ、Ｇ：Ｕ、Ｉ：Ｃおよびミスマッチ対、例えば、非正準対形成または正準対形成以外のものまたはユニバーサル塩基を含む対形成の群から独立に選択される、アンチセンス鎖の５’端から二重鎖領域内の最初の１、２、３、４または５つの塩基対のうち少なくとも１つを含む。
【０２８１】
一実施形態において、アンチセンス鎖中の５’端から二重鎖領域内の１位置のヌクレオチドは、Ａ、ｄＡ、ｄＵ、ＵおよびｄＴからなる群から選択される。あるいは、アンチセンス鎖の５’端から二重鎖領域内の最初の１、２または３つの塩基対のうち少なくとも１つは、ＡＵ塩基対である。例えば、アンチセンス鎖の５’端から二重鎖領域内の最初の塩基対は、ＡＵ塩基対である。
【０２８２】
別の実施形態において、センス鎖の３’端のヌクレオチドは、デオキシチミジン（ｄＴ）である。別の実施形態において、アンチセンス鎖の３’端のヌクレオチドは、デオキシチミジン（ｄＴ）である。一実施形態において、デオキシチミジンヌクレオチドの短い配列、例えば、センスまたはアンチセンス鎖の３’端の２つのｄＴヌクレオチドがある。
【０２８３】
一実施形態において、センス鎖配列は、式（Ｉ）：

５’ηp－Ｎa－（Ｘ　Ｘ　Ｘ）i－Ｎb－Ｙ　Ｙ　Ｙ　－Ｎb－（Ｚ　Ｚ　Ｚ）j－Ｎa－nq　３’　　（Ｉ）

［式中、

ｉおよびｊは各々独立に、０または１であり、

ｐおよびｑは各々独立に、０～６であり、

各Ｎaは独立に、０～２５の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各配列は、少なくとも２つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み、

各Ｎbは独立に、０～１０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、

各ｎpおよびｎqは独立に、オーバーハングヌクレオチドを表し、

Ｎbおよびｙは、同一修飾を有さず、ならびに

ＸＸＸ、ＹＹＹおよびＺＺＺは各々独立に、３連続ヌクレオチド上の３つの同一の修飾の１つのモチーフを表す］

によって表すことができる。好ましくは、ＹＹＹは、全て２’－Ｆ修飾されたヌクレオチドである。

【０２８４】

一実施形態において、ＮaまたはＮbは、交互パターンの修飾を含む。

【０２８５】

一実施形態において、ＹＹＹモチーフは、センス鎖の切断部位にまたはその付近に生じる。例えば、ＲＮＡｉ剤が１７～２３ヌクレオチド長の二重鎖領域を有する場合には、ＹＹＹモチーフは、センス鎖の切断部位にまたはその近傍に生じ得る（例えば、位置６、７、８、７、８、９、８、９、１０、９、１０、１１、１０、１１、１２または１１、１２、１３に生じ得る）、数は５’端から最初のヌクレオチドから開始する、または適宜、数は５’端から二重鎖領域内の最初の対形成されたヌクレオチドで開始してもよい。

【０２８６】

一実施形態において、ｉは１であり、ｊは０である、またはｉは０であり、ｊは１である、またはｉおよびｊは両方とも１である。したがって、センス鎖は、以下の式：

５’　ηp－Ｎa－ＹＹＹ－Ｎb－ＺＺＺ－Ｎa－nq　３’　　（Ｉｂ）、

５’　ηp－Ｎa－ＸＸＸ－Ｎb－ＹＹＹ－Ｎa－nq　３’　　（Ｉｃ）、または

５’　ηp－Ｎa－ＸＸＸ－Ｎb－ＹＹＹ－Ｎb－ＺＺＺ－Ｎa－nq　３’　　（Ｉｄ）

によって表すことができる。

【０２８７】

センス鎖が式（Ｉｂ）によって表される場合は、Ｎbは、０～１０、０～７、０～５、０～４、０～２または０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。

【０２８８】

各Ｎaは独立に、２～２０、２～１５または２～１０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表すことができる。

【０２８９】

センス鎖が式（Ｉｃ）として表される場合は、Ｎbは、０～１０、０～７、０～１０、０～７、０～５、０～４、０～２または０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。各Ｎaは、独立に、２～２０、２～１５または２～１０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す場合もある。

【０２９０】

センス鎖が、式（Ｉｄ）として表される場合には、各Ｎbは独立に、０～１０、０～７、０～５、０～４、０～２または０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。好ましくは、Ｎbは、０、１、２、３、４、５または６である。各Ｎaは独立に、２～２０、２～１５または２～１０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す場合もある。

【０２９１】

Ｘ、ＹおよびＺの各々は、互いに同一である場合も、異なっている場合もある。
【０２９２】
他の実施形態において、ｉは０であり、ｊは０であり、センス鎖は、次式：
５’　n_p－Ｎａ－ＹＹＹ－Ｎａ－n_q　３’　（Ｉａ）
によって表すことができる。
【０２９３】
センス鎖が、式（Ｉａ）によって表される場合には、各Ｎａは独立に、２～２０、２～１５または２～１０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を含み得る。
【０２９４】
一実施形態において、ＲＮＡｉのアンチセンス鎖配列は、式（Ｉｅ）：
５’　n_q’－Ｎａ’－（Ｚ’Ｚ’Z_k’）Ｎｂ’－Ｙ’Ｙ’Ｙ’$_b$－Ｎ－（Ｘ’Ｘ’X_l’）Ｎ’$_a$－n_p’　３’　（Ｉｅ）
［式中、
ｋおよびｌは各々独立に、０または１であり、
ｐ’およびｑ’は各々独立に、０～６であり、
各Ｎａ’は独立に、０～２５の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各配列は、少なくとも２つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み、
各Ｎｂ’独立に、０～１０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、
各n_p’およびn_q’は独立に、オーバーハングヌクレオチドを表し、
Ｎｂ’およびＹ’は、同一修飾を有さず、
Ｘ’Ｘ’Ｘ’、Ｙ’Ｙ’Ｙ’およびＺ’Ｚ’Ｚ’は各々独立に、３連続ヌクレオチド上の３つの同一の修飾の１つのモチーフを表す］
によって表すことができる。
【０２９５】
一実施形態において、Ｎａ’またはＮｂ’は、交互パターンの修飾を含む。
【０２９６】
Ｙ’Ｙ’Ｙ’モチーフは、センス鎖の切断部位にまたはその付近に生じる。例えば、ＲＮＡｉ剤が、１７～２３ヌクレオチド長の二重鎖領域を有する場合には、Ｙ’Ｙ’Ｙ’モチーフは、アンチセンス鎖の位置９、１０、１１、位置１０、１１、１２、位置１１、１２、１３、位置１２、１３、１４または－１３、１４、１５で生じる場合があり、数は５’端から最初のヌクレオチドから開始する、または適宜、数は５’端から二重鎖領域内の最初の対形成されたヌクレオチドで開始してもよい。好ましくは、Ｙ’Ｙ’Ｙ’モチーフは、位置１１、１２、１３で生じる。
【０２９７】
一実施形態において、Ｙ’Ｙ’Ｙ’モチーフは、全て２’－ＯＭｅ修飾されたヌクレオチドである。
【０２９８】
一実施形態において、ｋは１であり、ｌは０であるか、またはｋは０であり、ｌは１であるか、またはｋおよびｌは両方とも１である。
【０２９９】
したがって、アンチセンス鎖は、次式：
５’　n_q’－Ｎａ’－Ｚ’Ｚ’Ｚ’$_b$－Ｎ－Ｙ’Ｙ’Ｙ’$_a$－Ｎ－n_p’　３’　（Ｉｇ）、
５’　n_q’－Ｎａ’－Ｙ’Ｙ’Ｙ’$_b$－Ｎ－Ｘ’Ｘ’Ｘ’$_p$－n3’　（Ｉｈ）、または
５’　n_q’－Ｎａ’－　Ｚ’Ｚ’Ｚ’$_b$－Ｎ－Ｙ’Ｙ’Ｙ’$_b$－Ｎ－　Ｘ’Ｘ’Ｘ’$_a$－Ｎ－n_p’　３’　（Ｉｉ）
によって表すことができる。
【０３００】
アンチセンス鎖が式（Ｉｇ）として表される場合には、Ｎｂ’は、０～１０、０～７、

０～１０、０～７、０～５、０～４、０～２または０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。各Ｎａ’は独立に、２～２０、２～１５または２～１０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。

【０３０１】

アンチセンス鎖が式（Ｉｈ）として表される場合には、Ｎｂ’は、０～１０、０～７、０～１０、０～７、０～５、０～４、０～２または０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。各Ｎａ’は独立に、２～２０、２～１５または２～１０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。

【０３０２】

アンチセンス鎖が式（Ｉｉ）として表される場合には、各Ｎｂ’は独立に、０～１０、０～７、０～１０、０～７、０～５、０～４、０～２または０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。各Ｎａ’は独立に、２～２０、２～１５または２～１０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。好ましくは、Ｎｂは、０、１、２、３、４、５または６である。

【０３０３】

他の実施形態において、ｋは０であり、ｌは０であり、アンチセンス鎖は、次式：

５’ ｎｐ’－Ｎａ’－Ｙ’Ｙ’Ｙ’－ａＮ－ｎｑ’ ３’ （Ｉｆ）

によって表すことができる。

【０３０４】

アンチセンス鎖が、式（Ｉｆ）として表される場合には、各Ｎａ’は独立に、２～２０、２～１５または２～１０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。

【０３０５】

Ｘ’、Ｙ’およびＺ’の各々は、互いに同一である場合も、異なっている場合もある。

【０３０６】

センス鎖およびアンチセンス鎖の各ヌクレオチドは、ＬＮＡ、ＨＮＡ、ＣｅＮＡ、２’－メトキシエチル、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－アリル、２’－Ｃ－アリル、２’－ヒドロキシルまたは２’－フルオロで独立に修飾され得る。例えば、センス鎖およびアンチセンス鎖の各ヌクレオチドは、２’－Ｏ－メチルまたは２’－フルオロで独立に修飾される。各Ｘ、Ｙ、Ｚ、Ｘ’、Ｙ’およびＺ’は、特に、２’－Ｏ－メチル修飾または２’－フルオロ修飾を表す場合がある。

【０３０７】

一実施形態において、ＲＮＡｉ剤のセンス鎖は、二重鎖領域が２１ｎｔである場合に、鎖の位置９、１０および１１で生じるＹＹＹモチーフを含有し得る、数は５’端から最初のヌクレオチドから開始する、または適宜、数は５’端から二重鎖領域内の最初の対形成されたヌクレオチドで開始してもよく、Ｙは、２’－Ｆ修飾を表す。センス鎖は、二重鎖領域の対向端にウイング修飾としてＸＸＸモチーフまたはＺＺＺモチーフをさらに含有する場合があり、ＸＸＸおよびＺＺＺは各々独立に、２’－ＯＭｅ修飾または２’－Ｆ修飾を表す。

【０３０８】

一実施形態において、アンチセンス鎖は、鎖の位置１１、１２、１３で生じるＹ’Ｙ’Ｙ’モチーフを含有し得る、数は５’端から最初のヌクレオチドから開始する、または適宜、数は５’端から二重鎖領域内の最初の対形成されたヌクレオチドで開始してもよく、Ｙ’は、２’－Ｏ－メチル修飾を表す。アンチセンス鎖は、二重鎖領域の対向端にウイング修飾としてＸ’Ｘ’Ｘ’モチーフまたはＺ’Ｚ’Ｚ’モチーフをさらに含有する場合があり、Ｘ’Ｘ’Ｘ’およびＺ’Ｚ’Ｚ’は各々独立に、２’－ＯＭｅ修飾または２’－Ｆ修飾を表す。

【０３０９】

上記の式（Ｉａ）、（Ｉｂ）、（Ｉｃ）および（Ｉｄ）のいずれか１つによって表されるセンス鎖は、それぞれ式（Ｉｆ）、（Ｉｇ）、（Ｉｈ）および（Ｉｉ）のいずれか１つによって表されるアンチセンス鎖と二重鎖を形成する。

【０３１０】
したがって、本開示の方法において使用するためのＲＮＡｉ剤は、センス鎖およびアンチセンス鎖を含むことができ、各鎖は、１４～３０ヌクレオチドを有し、ＲＮＡｉ二重鎖は、式（Ｉｊ）：
センス：５’ n_p －N_a－（Ｘ Ｘ Ｘ）$_i$ －N_b－ Ｙ Ｙ Ｙ －N_b －（Ｚ Ｚ Ｚ）$_j$－N_a－n_q ３’
アンチセンス：３’ n_p’－N_a’－（Ｘ’Ｘ’Ｘ’）$_k$－N_b’－Ｙ’Ｙ’Ｙ’－N_b’－（Ｚ’Ｚ’Ｚ’）$_l$－N_a’－n_q’ ５’ （Ｉｊ）
［式中、
ｉ、ｊ、ｋおよびｌは各々独立に、０または１であり、
ｐ、ｐ’、ｑおよびｑ’は各々独立に、０～６であり、
各N_aおよびN_a’は独立に、０～２５の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各配列は、少なくとも２つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み、
各N_bおよびN_b’は独立に、０～１０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、
各n_p’、n_p、n_q’およびn_qは、それらの各々は存在する場合も存在しない場合もあるが、オーバーハングヌクレオチドを独立に表し、
ＸＸＸ、ＹＹＹ、ＺＺＺ、Ｘ’Ｘ’Ｘ’、Ｙ’Ｙ’Ｙ’およびＺ’Ｚ’Ｚ’は各々独立に、３連続ヌクレオチド上の３つの同一の修飾の１つのモチーフを表す］
によって表される。
【０３１１】
一実施形態において、ｉは０であり、ｊは０であるか、またはｉは１であり、ｊは０であるか、またはｉは０であり、ｊは１であるか、またはｉおよびｊは両方とも０であるか、またはｉおよびｊは両方とも１である。別の実施形態において、ｋは０であり、ｌは０であるか、またはｋは１であり、ｌは０であり、ｋは０であり、ｌは１であるか、またはｋおよびｌは両方とも０であるか、またはｋおよびｌは両方とも１である。
【０３１２】
ＲＮＡｉ二重鎖を形成するセンス鎖およびアンチセンス鎖の例示的組合せは、以下の式：
５’ n_p － N_a －Ｙ Ｙ Ｙ －N_a－n_q ３’
３’ n_p’－N_a’－Ｙ’Ｙ’Ｙ’ －n_q’ ５’ （Ｉｋ）
５’ n_p －N_a －Ｙ Ｙ Ｙ －N_b －Ｚ Ｚ Ｚ －N_a－n_q ３’
３’ n_p’－N_a’－Ｙ’Ｙ’Ｙ’－Ｚ’Ｚ’Ｚ’－N_a’－n_q’５’
（Ｉｌ）
５’ n_p－N_a－ Ｘ Ｘ Ｘ －N_b －Ｙ Ｙ Ｙ － N_a－n_q ３’
３’ n_p’－N_a’－Ｘ’Ｘ’Ｘ’－Ｙ’Ｙ’Ｙ’－n_q’ ５’ （Ｉｍ）
５’ n_p －N_a －Ｘ Ｘ Ｘ －N_b－Ｙ Ｙ Ｙ －N_b－ Ｚ Ｚ Ｚ －N_a－n_q ３’
３’ n_p’－N_a’－Ｘ’Ｘ’Ｘ’－Ｙ’Ｙ’Ｙ’－Ｚ’Ｚ’Ｚ’－n_q’ ５’
（Ｉｎ）
を含む。
【０３１３】
ＲＮＡｉ剤が式（Ｉｋ）によって表される場合には、各N_aは独立に、２～２０、２～１５または２～１０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。
【０３１４】
ＲＮＡｉ剤が式（Ｉｌ）によって表される場合には、各N_bは独立に、１～１０、１～７、１～５または１～４の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。各N_aは独立に、２～２０、２～１５、または２～１０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。
【０３１５】

ＲＮＡｉ剤が式（Ｉｍ）として表される場合には、各N_b、N_b’は独立に、０～１０、０～７、０～１０、０～７、０～５、０～４、０～２または０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。各N_aは独立に、２～２０、２～１５または２～１０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。

【０３１６】

ＲＮＡｉ剤が式（Ｉｎ）として表される場合には、各N_b、N_b’は独立に、０～１０、０～７、０～１０、０～７、０～５、０～４、０～２または０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。各N_a、N_a’は独立に、２～２０、２～１５または２～１０の修飾されたヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。N_a、N_a’、N_bおよびN_b’の各々は独立に、交互パターンの修飾を含む。

【０３１７】

一実施形態において、ＲＮＡｉ剤が式（Ｉｎ）によって表される場合には、N_a修飾は、２’－Ｏ－メチルまたは２’－フルオロ修飾である。別の実施形態において、ＲＮＡｉ剤が式（Ｉｎ）によって表される場合には、N_a修飾は、２’－Ｏ－メチルまたは２’－フルオロ修飾であり、n_p’＞０であり、少なくとも１つのn_p’は、ホスホロチオエート連結を介して隣接するヌクレオチドに連結される。さらに別の実施形態において、ＲＮＡｉ剤が式（Ｉｎ）によって表される場合には、N_a修飾は、２’－Ｏ－メチルまたは２’－フルオロ修飾であり、n_p’＞０であり、少なくとも１つのn_p’は、ホスホロチオエート連結を介して隣接するヌクレオチドに連結され、センス鎖は、二価または三価の分岐リンカー（以下に記載される）によって付着された１つまたは複数のＣ１６（または関連）部分にコンジュゲートされる。別の実施形態において、ＲＮＡｉ剤が式（Ｉｎ）によって表される場合には、N_a修飾は、２’－Ｏ－メチルまたは２’－フルオロ修飾であり、$_pn$’＞０であり、少なくとも１つのn_p’は、ホスホロチオエート連結を介して隣接するヌクレオチドに連結され、センス鎖は、少なくとも１つのホスホロチオエート連結を含み、センス鎖は、二価または三価の分岐リンカーによって付着されてもよい、１つまたは複数の親油性の、例えば、Ｃ１６（または関連）部分にコンジュゲートされる。

【０３１８】

一実施形態において、ＲＮＡｉ剤が式（Ｉｋ）によって表される場合には、N_a修飾は、２’－Ｏ－メチルまたは２’－フルオロ修飾であり、$_pn$’＞０であり、少なくとも１つのn_p’は、ホスホロチオエート連結を介して隣接するヌクレオチドに連結され、センス鎖は、少なくとも１つのホスホロチオエート連結を含み、センス鎖は、二価または三価の分岐リンカーによって付着された１つまたは複数の親油性の、例えば、Ｃ１６（または関連）部分にコンジュゲートされる。

【０３１９】

一実施形態において、ＲＮＡｉ剤は、式（Ｉｊ）、（Ｉｋ）、（Ｉｌ）、（Ｉｍ）および（Ｉｎ）によって表される少なくとも２つの二重鎖を含有する多量体であり、二重鎖は、リンカーによって接続される。リンカーは、切断可能である場合も、切断可能でない場合もある。多量体は、リガンドをさらに含んでもよい。二重鎖の各々は、同一の遺伝子を標的化する場合も、２つの異なる遺伝子を標的化する場合もあり、または二重鎖の各々は、２つの異なる標的部位の同一遺伝子を標的化する場合もある。

【０３２０】

一実施形態において、ＲＮＡｉ剤は、式（Ｉｊ）、（Ｉｋ）、（Ｉｌ）、（Ｉｍ）および（Ｉｎ）によって表される、３、４、５、６またはそれより多い二重鎖を含有する多量体であり、二重鎖は、リンカーによって接続される。リンカーは、切断可能である場合も、切断可能でない場合もある。多量体は、リガンドをさらに含んでもよい。二重鎖の各々は、同一の遺伝子を標的化する場合も、２つの異なる遺伝子を標的化する場合もあり、または二重鎖の各々は、２つの異なる標的部位の同一遺伝子を標的化する場合もある。

【０３２１】

一実施形態において、式（Ｉｊ）、（Ｉｋ）、（Ｉｌ）、（Ｉｍ）および（Ｉｎ）によって表される２つのＲＮＡｉ剤は、５’端で互いに連結され、３’端の一方または両方は、

リガンドにコンジュゲートされてもよい。薬剤の各々は、同一の遺伝子を標的化する場合も、２つの異なる遺伝子を標的化する場合もあり、または薬剤の各々は、２つの異なる標的部位の同一遺伝子を標的化する場合もある。

【０３２２】

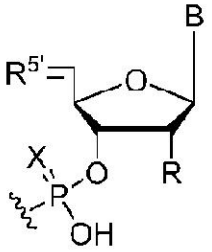
種々の刊行物には、本開示の方法において使用され得る多量体ＲＮＡｉ剤が記載されている。このような刊行物には、ＷＯ２００７／０９１２６９、ＷＯ２０１０／１４１５１１、ＷＯ２００７／１１７６８６、ＷＯ２００９／０１４８８７およびＷＯ２０１１／０３１５２０ならびにＵＳ７８５８７６９が含まれ、それらの各々の内容全体は参照により本明細書に組み込まれる。

【０３２３】

ある特定の実施形態において、本開示の組成物および方法は、本明細書に記載されるようなＲＮＡｉ剤のビニルホスホネート（ＶＰ）修飾を含む。例示的な実施形態において、本開示の５’－ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドは、以下の構造：

【０３２４】

【化２】



［式中、Ｘは、ＯまたはＳであり；
Ｒは、水素、ヒドロキシ、フルオロ、またはＣ１～２０アルコキシ（例えば、メトキシまたはｎ－ヘキサデシルオキシ）であり；
Ｒ５’は＝Ｃ（Ｈ）－Ｐ（Ｏ）（ＯＨ）２であり、Ｃ５’炭素とＲ５’との間の二重結合はＥまたはＺ配置（例えば、Ｅ配置）であり；
Ｂは、核酸塩基または修飾された核酸塩基であり、ここでは、Ｂは、アデニン、グアニン、シトシン、チミン、またはウラシルであってもよい］

を有する。

【０３２５】

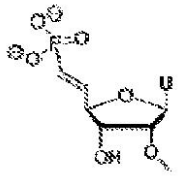
一実施形態において、Ｒ５’は＝Ｃ（Ｈ）－Ｐ（Ｏ）（ＯＨ）２であり、Ｃ５’炭素とＲ５’との間の二重結合はＥ配置である。別の実施形態において、Ｒはメトキシであり、Ｒ５’は＝Ｃ（Ｈ）－Ｐ（Ｏ）（ＯＨ）２であり、Ｃ５’炭素とＲ５’との間の二重結合はＥ配置である。別の実施形態において、ＸはＳであり、Ｒはメトキシであり、Ｒ５’は＝Ｃ（Ｈ）－Ｐ（Ｏ）（ＯＨ）２であり、Ｃ５’炭素とＲ５’との間の二重結合はＥ配置である。

【０３２６】

本開示のビニルホスホネートは、本開示のｄｓＲＮＡのアンチセンスまたはセンス鎖のいずれかに付着させることができる。ある特定の実施形態において、本開示のビニルホスホネートを、適宜、ｄｓＲＮＡのアンチセンス鎖の５’端でｄｓＲＮＡのアンチセンス鎖に付着させる。ｄｓＲＮＡ剤は、センス鎖またはアンチセンス鎖の５’端にリン含有基を含むことができる。５’端リン含有基は、５’端ホスフェート（５’－Ｐ）、５’端ホスホロチオエート（５’－ＰＳ）、５’端ホスホロジチオエート（５’－ＰＳ２）、５’端ビニルホスホネート（５’－ＶＰ）、５’端メチルホスホネート（ＭｅＰｈｏｓ）、または５’－デオキシ－５’－Ｃ－マロニルであり得る。５’端リン含有基が５’端ビニルホスホネート（５’－ＶＰ）である場合には、５’－ＶＰは、５’－Ｅ－ＶＰ異性体（すなわち、ｔｒａｎｓ－ビニルホスホネート、

【０３２７】

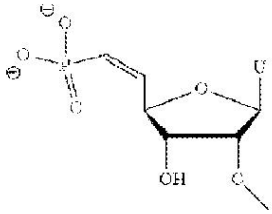
【化３】



）、５’－Ｚ－ＶＰ異性体（すなわち、ｃｉｓ－ビニルホスホネート、

【０３２８】

【化４】



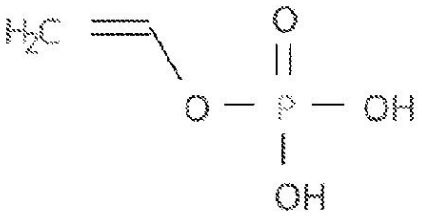
）、またはそれらの混合物のいずれかであり得る。

【０３２９】

本開示の組成物および方法のためにビニルホスフェート修飾も企図される。例示的なビニルホスフェート構造は、以下のものである：

【０３３０】

【化５】



【０３３１】

例えば、ホスフェートミミックが５’－ビニルホスフェートである場合には、５’末端ヌクレオチドは、ホスホネート基がホスフェートに置き換えられた、隣接構造（ｉｍｍｅｄｉａｔｅｌｙ　ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ）を有することができる。

【０３３２】

ｉ．熱的不安定化修飾

ある特定の実施形態において、アンチセンス鎖のシード領域に熱的不安定化修飾を組み込むことによって、ｄｓＲＮＡ分子をＲＮＡ干渉のために最適化できる。本明細書において使用される場合、「シード領域」は、言及される鎖の５’端の位置２～９を意味する。例えば、熱的不安定化修飾をアンチセンス鎖のシード領域に組み込んで、オフターゲット遺伝子サイレンシングを低減または阻害することができる。

【０３３３】

用語「熱的不安定化修飾（複数可）」は、そのような修飾（複数可）を有さないｄｓＲＮＡの融解温度（T_m）よりも低下した全体の融解温度（T_m）を有するｄｓＲＮＡをもたらすであろう修飾（複数可）を含む。例えば、熱的不安定化修飾（複数可）は、ｄｓＲＮＡのT_mを１～４℃、例えば、摂氏１、２、３、または４度減少させることができる。また、用語「熱的不安定化ヌクレオチド」は、１つまたは複数の熱的不安定化修飾を含有するヌクレオチドを指す。

【０３３４】

アンチセンス鎖の５’端から数えて最初の９ヌクレオチド位置内に二重鎖の少なくとも

１つの熱的不安定化修飾を含むアンチセンス鎖を有するｄｓＲＮＡが、オフターゲット遺伝子サイレンシング活性を低減したことが発見されている。したがって、一部の実施形態において、アンチセンス鎖は、アンチセンス鎖の５’領域の最初の９ヌクレオチド位置内に少なくとも１つの（例えば、１、２、３、４、５またはそれより多い）二重鎖の熱的不安定化修飾を含む。一部の実施形態において、１つまたは複数の二重鎖の熱的不安定化修飾は、アンチセンス鎖の５’端から位置２～９、または好ましくは、位置４～８中に位置する。一部のさらなる実施形態において、二重鎖の熱的不安定化修飾（複数可）は、アンチセンス鎖の５’端から位置６、７または８に位置する。さらに一部のさらなる実施形態において、二重鎖の熱的不安定化修飾は、アンチセンス鎖の５’端から位置７に位置する。一部の実施形態において、二重鎖の熱的不安定化修飾は、アンチセンス鎖の５’端から位置２、３、４、５または９に位置する。

【０３３５】

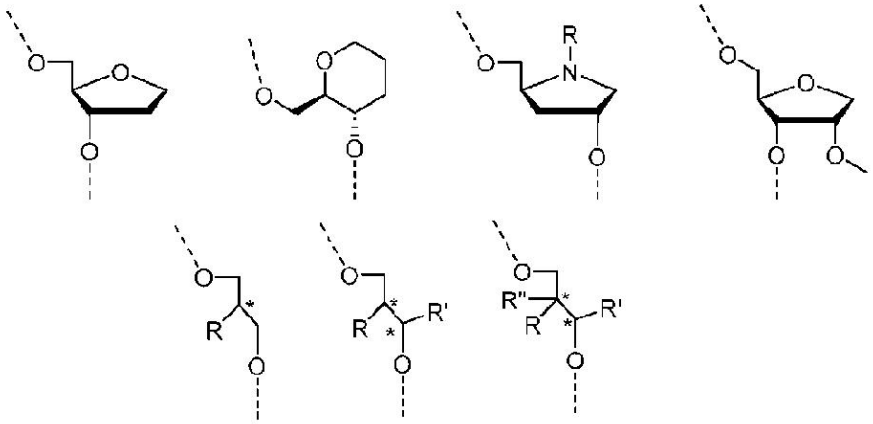
熱的不安定化修飾として、それだけには限らないが、脱塩基修飾、対向する鎖における対向するヌクレオチドとのミスマッチ、および糖修飾、例えば、２’－デオキシ修飾または非環式ヌクレオチド、例えば、非ロックド核酸（ＵＮＡ）またはグリコール核酸（ＧＮＡ）を挙げることができる。

【０３３６】

例示される脱塩基修飾として、それだけには限らないが、以下：

【０３３７】

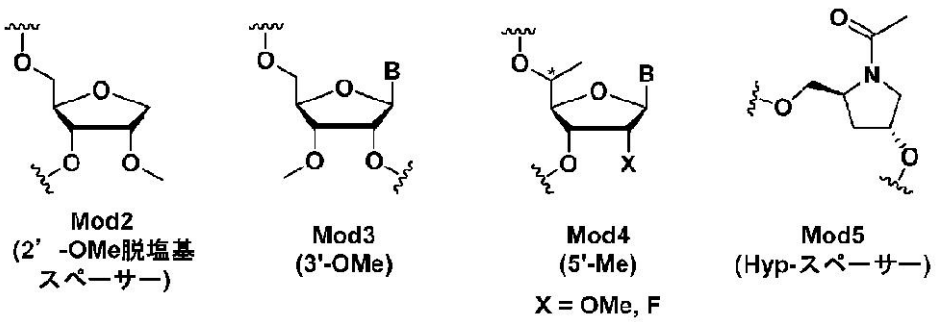
【化６】



［式中、Ｒ＝Ｈ、Ｍｅ、ＥｔまたはＯＭｅ；Ｒ’＝Ｈ、Ｍｅ、ＥｔまたはＯＭｅ；Ｒ”＝Ｈ、Ｍｅ、ＥｔまたはＯＭｅ］

【０３３８】

【化７】



［式中、Ｂは、修飾されたまたは未修飾の核酸塩基である］

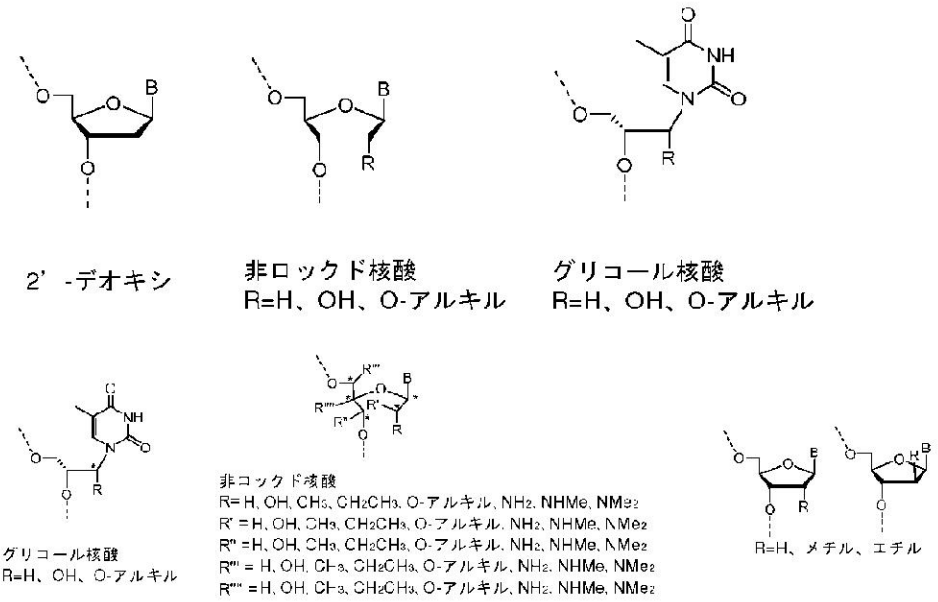
が挙げられる。

【０３３９】

例示される糖修飾として、それだけには限らないが、以下：

【０３４０】

【化８】



［式中、Ｂは、修飾されたまたは未修飾の核酸塩基である］

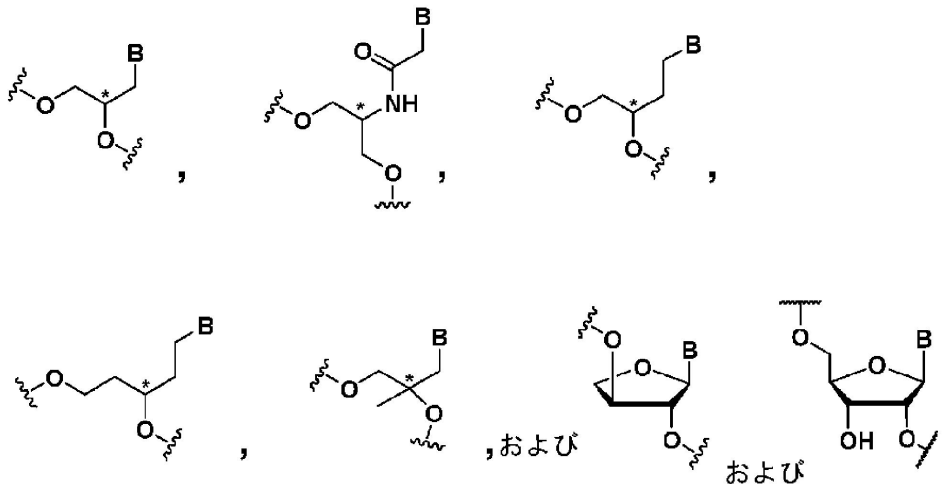
が挙げられる。

【０３４１】

一部の実施形態において、二重鎖の熱的不安定化修飾は、以下：

【０３４２】

【化９】



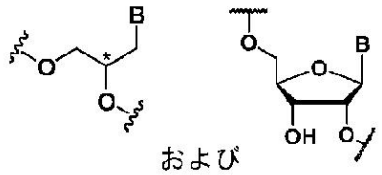
［式中、Ｂは、修飾されたまたは未修飾の核酸塩基であり、各構造上のアスタリスクは、Ｒ、Ｓまたはラセミのいずれかを表す］

からなる群から選択される。

【０３４３】

一部の実施形態において、二重鎖の熱的不安定化修飾は、以下：

【化１０】



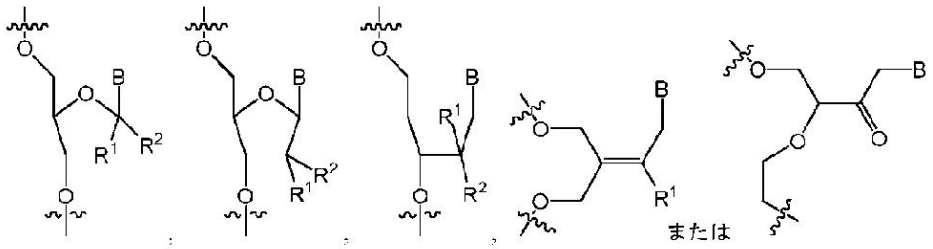
［式中、Ｂは、修飾されたまたは未修飾の核酸塩基であり、アスタリスクは、Ｒ、Ｓまたはラセミのいずれか（例えば、Ｓ）を表す］
からなる群から選択される。

【０３４４】

「非環式ヌクレオチド」という用語は、例えば、リボース炭素間の結合のいずれか（例えば、Ｃ１’－Ｃ２’、Ｃ２’－Ｃ３’、Ｃ３’－Ｃ４’、Ｃ４’－Ｏ４’またはＣ１’－Ｏ４’）存在しないか、またはリボース炭素もしくは酸素のうち少なくとも１つ（例えば、Ｃ１’、Ｃ２’、Ｃ３’、Ｃ４’またはＯ４’）が独立に、もしくは組み合わせてヌクレオチドに存在しない、非環式リボース糖を有する任意のヌクレオチドを指す。一部の実施形態において、非環式ヌクレオチドは、

【０３４５】

【化１１】



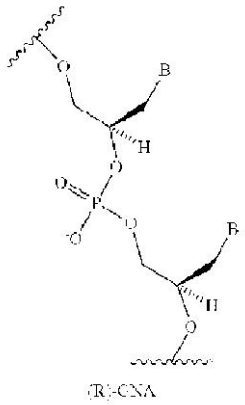
［式中、Ｂは、修飾されたまたは未修飾の核酸塩基であり、R^1およびR^2は独立に、Ｈ、ハロゲン、OR_3またはアルキルであり；ならびにR_3は、Ｈ、アルキル、シクロアルキル、アリール、アラルキル、ヘテロアリールまたは糖である］。用語「ＵＮＡ」は、糖の結合のいずれも除去されており、非ロックド「糖」残基を形成している、非ロックド非環式核酸を指す。一例では、ＵＮＡはまた、Ｃ１’－Ｃ４’の間の結合（すなわち、Ｃ１’炭素とＣ４’炭素間の共有結合の炭素－酸素－炭素結合）が除去されているモノマーも包含する。別の例では、糖のＣ２’－Ｃ３’結合（すなわち、Ｃ２’炭素とＣ３’炭素間の共有結合の炭素－炭素結合）が除去されている［参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Mikhailov et. al., Tetrahedron Letters, 26 (17): 2059 (1985)；およびFluiter et al., Mol. Biosyst., 10: 1039 (2009)を参照されたい］。非環式誘導体は、ワトソン－クリック対形成に影響を及ぼすことなく、より大きな骨格柔軟性を提供する。非環式ヌクレオチドは、２’－５’または３’－５’連結を介して連結され得る。

【０３４６】

「ＧＮＡ」という用語は、ＤＮＡまたはＲＮＡと類似のポリマーであるが、ホスホジエステル結合によって連結された反復するグリセロール単位から構成される点でその「骨格」の組成が異なっているグリコール核酸を指す：

【０３４７】

【化１２】



【０３４８】

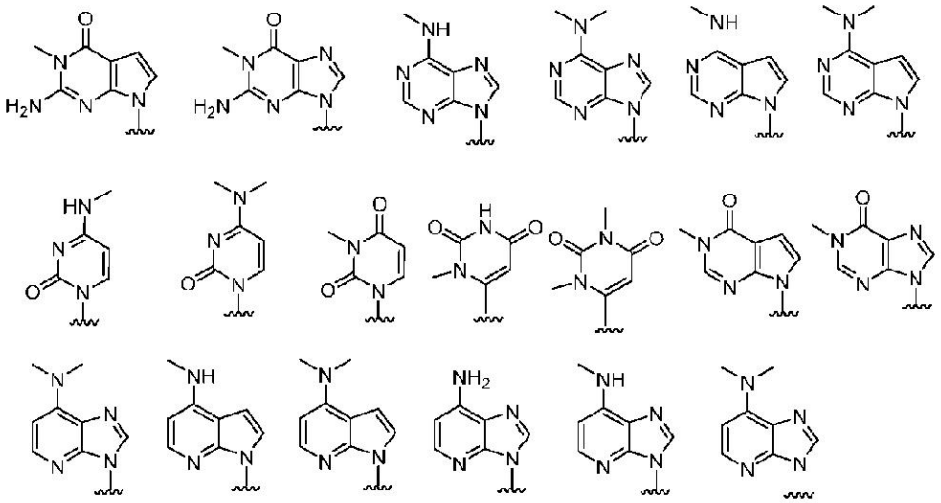
二重鎖の熱的不安定化修飾は、熱的不安定化ヌクレオチドと、ｄｓＲＮＡ二本鎖内の対向鎖中の対向するヌクレオチドの間のミスマッチ（すなわち、非相補的塩基対）であり得る。例示的ミスマッチ塩基対として、Ｇ：Ｇ、Ｇ：Ａ、Ｇ：Ｕ、Ｇ：Ｔ、Ａ：Ａ、Ａ：Ｃ、Ｃ：Ｃ、Ｃ：Ｕ、Ｃ：Ｔ、Ｕ：Ｕ、Ｔ：Ｔ、Ｕ：Ｔまたはそれらの組合せが挙げられる。当技術分野で公知の他のミスマッチ塩基対形成も本発明に適している。ミスマッチは、天然に存在するヌクレオチドまたは修飾されたヌクレオチドのいずれかであるヌクレオチドの間に生じ得る、すなわち、ミスマッチ塩基対形成は、ヌクレオチドのリボース糖上の修飾とは独立してそれぞれのヌクレオチドに由来する核酸塩基間で生じ得る。ある特定の実施形態において、ｄｓＲＮＡ分子は、２’－デオキシ核酸塩基である、ミスマッチ対形成中の少なくとも１つの核酸塩基を含有する、例えば、２’－デオキシ核酸塩基は、センス鎖中にある。

【０３４９】

一部の実施形態において、アンチセンス鎖のシード領域中の二重鎖の熱的不安定化修飾は、標的ｍＲＮＡ上の相補的塩基とのＷ－Ｃ　Ｈ結合が損なわれたヌクレオチド、例えば：

【０３５０】

【化１３】

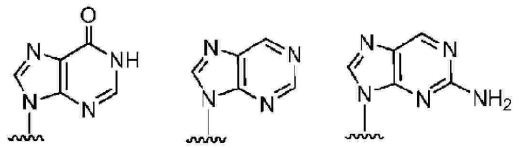


を含む。

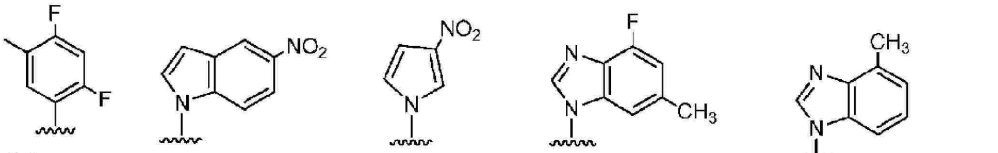
【０３５１】

脱塩基ヌクレオチド、非環式ヌクレオチド修飾（ＵＮＡおよびＧＮＡを含む）およびミスマッチ修飾のより多くの例は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるＷＯ２０１１／１３３８７６に詳細に記載されている。

【０３５２】
熱的不安定化修飾はまた、対向する塩基と水素結合を形成する能力が低減または消失したユニバーサル塩基およびリン酸修飾を含み得る。
【０３５３】
一部の実施形態において、二重鎖の熱的不安定化修飾には、非正準塩基を有するヌクレオチド、例えば、それだけには限らないが、対向鎖中の塩基と水素結合を形成する能力が損なわれた、または完全に消失した核酸塩基修飾が含まれる。これらの核酸塩基修飾は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるＷＯ２０１０／００１１８９５に記載されるように、ｄｓＲＮＡ二重鎖の中心領域の不安定化について評価されている。例示的核酸塩基修飾として、以下：
【０３５４】
【化１４】

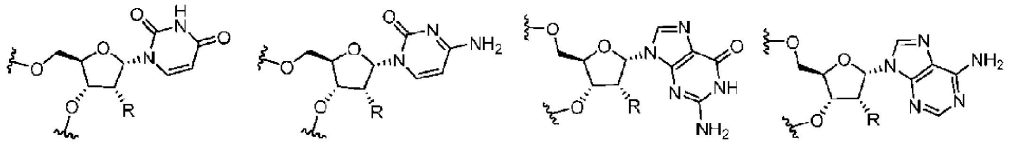


イノシン　ネブラリン　2-アミノプリン



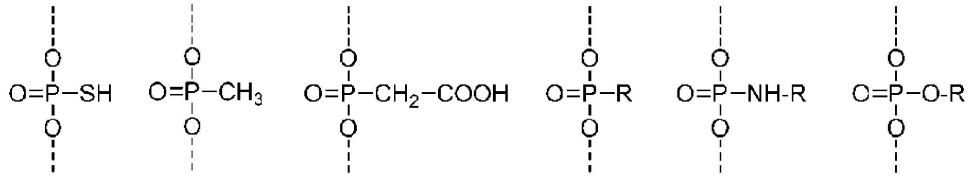
2,4-
ｼﾞﾌﾙｵﾛﾄﾙｴﾝ　5-ﾆﾄﾛｲﾝﾄﾞｰﾙ　3-ﾆﾄﾛﾋﾟﾛｰﾙ　4-ﾌﾙｵﾛ-6-
ﾒﾁﾙﾍﾞﾝｽﾞｲﾐﾀﾞｿﾞｰﾙ　4-ﾒﾁﾙﾍﾞﾝｽﾞｲﾐﾀﾞｿﾞｰﾙ

がある。
【０３５５】
一部の実施形態において、アンチセンス鎖のシード領域における二重鎖の熱的不安定化修飾には、標的ｍＲＮＡ上の塩基と相補的である１つまたは複数のα－ヌクレオチド、例えば、以下：
【０３５６】
【化１５】



［式中、Ｒは、Ｈ、ＯＨ、ＯＣＨ$_3$、Ｆ、ＮＨ$_2$、ＮＨＭｅ、ＮＭｅ$_2$またはＯ－アルキルである］
が含まれる。
【０３５７】
天然のホスホジエステル結合と比較して、ｄｓＲＮＡ二重鎖の熱的安定性を低下させると知られている例示的リン酸修飾として：
【０３５８】

【化１６】



がある。

【０３５９】

Ｒ基のアルキルは、Ｃ１～Ｃ６アルキルであり得る。Ｒ基の具体的なアルキルとして、それだけには限らないが、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、ペンチルおよびヘキシルが挙げられる。

【０３６０】

当業者は認識するであろうが、核酸塩基の機能的役割が本開示のＲＮＡｉ剤の特異性を定義していることを考慮して、核酸塩基修飾は、例えば、オフターゲット効果に対してオンターゲット効果を増強する目的のために、例えば、本開示のＲＮＡｉ剤中に不安定化修飾を導入するために、本明細書に記載されるような種々の方法で実施できるが、利用可能な、一般に、本開示のＲＮＡｉ剤上に存在する修飾の範囲は、非核酸塩基修飾、例えば、ポリリボヌクレオチドの糖基またはリン酸骨格への修飾についてより大きいものとなる傾向がある。このような修飾は、本開示の他の節においてより詳細に記載されており、上記または本明細書において他の場所で記載されるような、天然の核酸塩基または修飾された核酸塩基のいずれかを有する本開示のＲＮＡｉ剤のために明確に企図される。

【０３６１】

熱的不安定化修飾を含むアンチセンス鎖に加えて、ｄｓＲＮＡはまた、１または複数の安定化修飾を含み得る。例えば、ｄｓＲＮＡは、少なくとも２つの（例えば、２、３、４、５、６、７、８、９、１０またはそれより多い）安定化修飾を含み得る。制限するものではないが、安定化修飾は全て、一方の鎖中に存在する場合がある。一部の実施形態において、センスおよびアンチセンス鎖両方が、少なくとも２つの安定化修飾を含む。安定化修飾は、センス鎖またはアンチセンス鎖の任意のヌクレオチドで生じ得る。例えば、安定化修飾は、センス鎖もしくはアンチセンス鎖上のどのヌクレオチドでも生じる場合があり、各安定化修飾は、センス鎖もしくはアンチセンス鎖上で交互パターンで生じる場合があり、またはセンス鎖もしくはアンチセンス鎖は、両方とも交互パターンで安定化修飾を含む。センス鎖上の安定化修飾の交互パターンは、アンチセンス鎖と同一である場合も異なっている場合もあり、センス鎖上の安定化修飾の交互パターンは、アンチセンス鎖上の安定化修飾の交互パターンと比較してシフトを有する場合がある。

【０３６２】

一部の実施形態において、アンチセンス鎖は、少なくとも２つ（例えば、２、３、４、５、６、７、８、９、１０またはそれより多い）の安定化修飾を含む。制限するものではないが、アンチセンス鎖中の安定化修飾は、任意の位置に存在し得る。一部の実施形態において、アンチセンスは、５’端から位置２、６、８、９、１４および１６に安定化修飾を含む。一部の他の実施形態において、アンチセンスは、５’端から位置２、６、１４および１６に安定化修飾を含む。さらに一部の他の実施形態において、アンチセンスは、５’端から位置２、１４および１６に安定化修飾を含む。

【０３６３】

一部の実施形態において、アンチセンス鎖は、不安定化修飾に隣接する少なくとも１つの安定化修飾を含む。例えば、安定化修飾は、不安定化修飾の５’端または３’端の、すなわち、不安定化修飾の位置から位置－１または＋１のヌクレオチドであり得る。一部の実施形態において、アンチセンス鎖は、不安定化修飾の５’端および３’端の各々、すなわち、不安定化修飾の位置から位置－１および＋１に安定化修飾を含む。

【０３６４】
一部の実施形態において、アンチセンス鎖は、不安定化修飾の３’端に、すなわち、不安定化修飾の位置から位置＋１および＋２に少なくとも２つの安定化修飾を含む。
【０３６５】
一部の実施形態において、センス鎖は、少なくとも２つ（例えば、２、３、４、５、６、７、８、９、１０またはそれより多い）の安定化修飾を含む。制限するものではないが、センス鎖中の安定化修飾は、任意の位置に存在し得る。一部の実施形態において、センス鎖は、５’端から位置７、１０および１１に安定化修飾を含む。一部の他の実施形態において、センス鎖は、５’端から位置７、９、１０および１１に安定化修飾を含む。一部の実施形態において、センス鎖は、アンチセンス鎖の５’端から数えてアンチセンス鎖の位置１１、１２および１５に対して対向するまたは相補的な位置に安定化修飾を含む。一部の他の実施形態において、センス鎖は、アンチセンス鎖の５’端から数えてアンチセンス鎖の位置１１、１２、１３および１５に対して対向するまたは相補的な位置に安定化修飾を含む。一部の実施形態において、センス鎖は、２、３または４つの安定化修飾のブロックを含む。
【０３６６】
一部の実施形態において、センス鎖は、アンチセンス鎖中の二重鎖の熱的不安定化修飾に対抗するまたは相補的な位置に安定化修飾を含まない。
【０３６７】
例示的な熱的安定化修飾として、それだけには限らないが、２’－フルオロ修飾が挙げられる。他の熱的安定化修飾として、それだけには限らないが、ＬＮＡが挙げられる。
【０３６８】
一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡは、少なくとも４つの（例えば、４、５、６、７、８、９、１０またはそれより多い）２’－フルオロヌクレオチドを含む。制限するものではないが、２’－フルオロヌクレオチドは全て、一方の鎖中に存在する場合がある。一部の実施形態において、センスおよびアンチセンス鎖両方が、少なくとも２つの２’－フルオロヌクレオチドを含む。２’－フルオロ修飾は、センス鎖またはアンチセンス鎖の任意のヌクレオチドで生じ得る。例えば、２’－フルオロ修飾は、センス鎖もしくはアンチセンス鎖上のどのヌクレオチドでも生じる場合があり、各２’－フルオロ修飾は、センス鎖もしくはアンチセンス鎖上で交互パターンで生じる場合があり、またはセンス鎖もしくはアンチセンス鎖は、両方とも交互パターンで２’－フルオロ修飾を含む。センス鎖上の２’－フルオロ修飾の交互パターンは、アンチセンス鎖と同一である場合も異なっている場合もあり、センス鎖上の２’－フルオロ修飾の交互パターンは、アンチセンス鎖上の２’－フルオロ修飾の交互パターンと比較してシフトを有する場合がある。
【０３６９】
一部の実施形態において、アンチセンス鎖は、少なくとも２つ（例えば、２、３、４、５、６、７、８、９、１０またはそれより多い）の２’－フルオロヌクレオチドを含む。制限するものではないが、アンチセンス鎖中の２’－フルオロ修飾は、任意の位置に存在し得る。一部の実施形態において、アンチセンスは、５’端から位置２、６、８、９、１４および１６に２’－フルオロヌクレオチドを含む。一部の他の実施形態において、アンチセンスは、５’端から位置２、６、１４および１６に２’－フルオロヌクレオチドを含む。さらに一部の他の実施形態において、アンチセンスは、５’端から位置２、１４および１６に２’－フルオロヌクレオチドを含む。
【０３７０】
一部の実施形態において、アンチセンス鎖は、不安定化修飾に隣接する少なくとも１つの２’－フルオロヌクレオチドを含む。例えば、２’－フルオロヌクレオチドは、不安定化修飾の５’端または３’端の、すなわち、不安定化修飾の位置から位置－１または＋１のヌクレオチドであり得る。一部の実施形態において、アンチセンス鎖は、不安定化修飾の５’端および３’端の各々、すなわち、不安定化修飾の位置から位置－１および＋１に２’－フルオロヌクレオチドを含む。

【０３７１】
一部の実施形態において、アンチセンス鎖は、不安定化修飾の３’端に、すなわち、不安定化修飾の位置から位置＋１および＋２に少なくとも２つの２’－フルオロヌクレオチドを含む。
【０３７２】
一部の実施形態において、センス鎖は、少なくとも２つ（例えば、２、３、４、５、６、７、８、９、１０またはそれより多い）の２’－フルオロヌクレオチドを含む。制限するものではないが、センス中の２’－フルオロ修飾は、任意の位置に存在し得る。一部の実施形態において、アンチセンスは、５’端から位置７、１０および１１に２’－フルオロヌクレオチドを含む。一部の他の実施形態において、センス鎖は、５’端から位置７、９、１０および１１に２’－フルオロヌクレオチドを含む。一部の実施形態において、センス鎖は、アンチセンス鎖の５’端から数えてアンチセンス鎖の位置１１、１２および１５に対して対向するまたは相補的な位置に２’－フルオロヌクレオチドを含む。一部の他の実施形態において、センス鎖は、アンチセンス鎖の５’端から数えてアンチセンス鎖の位置１１、１２、１３および１５に対して対向するまたは相補的な位置に２’－フルオロヌクレオチドを含む。一部の実施形態において、センス鎖は、２、３または４つの２’－フルオロヌクレオチドのブロックを含む。
【０３７３】
一部の実施形態において、センス鎖は、アンチセンス鎖中の二重鎖の熱的不安定化修飾に対抗するまたは相補的な位置に２’－フルオロヌクレオチドを含まない。
【０３７４】
一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、２１ヌクレオチド（ｎｔ）のセンス鎖および２３ヌクレオチド（ｎｔ）のアンチセンスを含み、アンチセンス鎖は、少なくとも１つの熱的不安定化ヌクレオチドを含有し、少なくとも１つの熱的不安定化ヌクレオチドは、アンチセンス鎖のシード領域中に（すなわち、アンチセンス鎖の５’端の位置２～９に）生じ、ｄｓＲＮＡの一方の末端は平滑であり、もう一方の末端は２ｎｔのオーバーハングを含み、ｄｓＲＮＡは、以下の特徴のうち少なくとも１つ（例えば、１、２、３、４、５、６または７つ全て）をさらに有してもよい：（ｉ）アンチセンスは、２、３、４、５または６つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｉｉ）アンチセンスは、１、２、３、４または５つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、（ｉｉｉ）センス鎖は、リガンドとコンジュゲートされる、（ｉｖ）センス鎖は、２、３、４または５つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｖ）センス鎖は、１、２、３、４または５つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、（ｖｉ）ｄｓＲＮＡは、少なくとも４つの２’－フルオロ修飾を含む、および（ｖｉｉ）ｄｓＲＮＡは、アンチセンス鎖の５’端に平滑末端を含む。好ましくは、２ｎｔのオーバーハングは、アンチセンスの３’端にある。
【０３７５】
一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センスおよびアンチセンス鎖を含み、センス鎖は、２５～３０ヌクレオチド残基の長さであり、５’末端ヌクレオチド（位置１）から開始して、前記センス鎖の位置１～２３は、少なくとも８のリボヌクレオチドを含み、アンチセンス鎖は、３６～６６ヌクレオチド残基の長さであり、３’末端ヌクレオチドから開始して、センス鎖の位置１～２３と対形成される位置中の少なくとも８のリボヌクレオチドは、二本鎖を形成し、アンチセンス鎖の少なくとも３’末端ヌクレオチドは、センス鎖と対形成せず、最大６つの連続３’末端ヌクレオチドは、センス鎖と対形成せず、それによって、１～６ヌクレオチドの３’一本鎖オーバーハングを形成し、アンチセンス鎖の５’末端は、センス鎖と対形成しない１０～３０の連続ヌクレオチドを含み、それによって、１０～３０ヌクレオチドの一本鎖５’オーバーハングを形成し、少なくともセンス鎖５’末端および３’末端ヌクレオチドは、センスおよびアンチセンス鎖が最大相補性のためにアラインされる場合に、アンチセンス鎖のヌクレオチドと対形成される塩基であり、それによって、センスおよびアンチセンス鎖の間に実質的に二本鎖の領域を形成し、アンチセンス鎖は、アンチセンス鎖の長さの少なくとも１９リボヌクレオチドに沿

って標的ＲＮＡと十分に相補的であり、二本鎖核酸が哺乳動物細胞中に導入される場合に標的遺伝子発現を低減させ、アンチセンス鎖は、少なくとも１つの熱的不安定化ヌクレオチドを含有し、少なくとも１つの熱的不安定化ヌクレオチドは、アンチセンス鎖のシード領域中（すなわち、アンチセンス鎖の５’端の位置２～９に）にある。例えば、熱的不安定化ヌクレオチドは、センス鎖の５’端の位置１４～１７に対抗するまたは相補的な位置の間に生じ、ｄｓＲＮＡは、以下の特徴のうち少なくとも１つ（例えば、１、２、３、４、５、６または７つ全て）をさらに有してもよい：（ｉ）アンチセンスは、２、３、４、５または６つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｉｉ）アンチセンスは、１、２、３、４または５つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、（ｉｉｉ）センス鎖は、リガンドとコンジュゲートされる、（ｉｖ）センス鎖は、２、３、４または５つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｖ）センス鎖は、１、２、３、４または５つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、（ｖｉ）ｄｓＲＮＡは、少なくとも４つの２’－フルオロ修飾を含む、および（ｖｉｉ）ｄｓＲＮＡは、１２～３０ヌクレオチド対の長さの二重鎖領域を含む。

【０３７６】

一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センスおよびアンチセンス鎖を含み、前記ｄｓＲＮＡ分子は、少なくとも２５かつ多くとも２９ヌクレオチドである長さを有するセンス鎖と、多くとも３０ヌクレオチドである長さを有するアンチセンス鎖を含み、センス鎖は５’端から位置１１に酵素分解に対して感受性である修飾されたヌクレオチドを含み、前記センス鎖の３’端と前記アンチセンス鎖の５’端は平滑末端を形成し、前記アンチセンス鎖は、センス鎖よりもその３’端で１～４ヌクレオチド長く、二重鎖領域は少なくとも２５ヌクレオチド長であり、前記アンチセンス鎖は、少なくとも１９ヌクレオチドの前記アンチセンス鎖の長さに沿って標的ｍＲＮＡと十分に相補的であり、前記ｄｓＲＮＡ分子が哺乳動物細胞中に導入される場合に標的遺伝子発現を低減させ、前記ｄｓＲＮＡのダイサー切断は、前記アンチセンス鎖の３’端を含むｓｉＲＮＡを優先的にもたらし、それによって、哺乳動物において標的遺伝子の発現を低減し、アンチセンス鎖は、少なくとも１つの熱的不安定化ヌクレオチドを含有し、少なくとも１つの熱的不安定化ヌクレオチドは、アンチセンス鎖のシード領域中（すなわち、アンチセンス鎖の５’端の位置２～９）にあり、ｄｓＲＮＡは、以下の特徴のうち少なくとも１つ（例えば、１、２、３、４、５、６または７つ全て）をさらに有してもよい：（ｉ）アンチセンスは、２、３、４、５または６つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｉｉ）アンチセンスは、アンチセンスは、２、３、４、５または６つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｉｉ）アンチセンスは、１、２、３、４または５つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、（ｉｉｉ）センス鎖は、リガンドとコンジュゲートされる、（ｉｖ）センス鎖は、２、３、４または５つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｖ）センス鎖は、１、２、３、４または５つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、（ｖｉ）ｄｓＲＮＡは、少なくとも４つの２’－フルオロ修飾を含む、および（ｖｉｉ）ｄｓＲＮＡは、１２～２９ヌクレオチド対の長さの二重鎖領域を有する。

【０３７７】

一部の実施形態において、ｄｓＲＮＡ分子のセンス鎖およびアンチセンス鎖中のどのヌクレオチドも修飾され得る。各ヌクレオチドは、非連結性リン酸酸素の、または連結性リン酸酸素の１つもしくは複数の一方または両方の１つまたは複数の変更、リボース糖の構成成分の、例えば、リボース糖上の２’ヒドロキシルの変更、リン酸部分の「デホスホ」リンカーとの大規模な置き換え、天然に存在する塩基の修飾または置き換え、およびリボース－リン酸骨格の置き換えまたは修飾を含み得る同一または異なる修飾で修飾され得る。

【０３７８】

核酸はサブユニットのポリマーであるので、修飾の多くは、核酸内で反復される位置で生じる、例えば、塩基またはリン酸部分またはリン酸部分の非連結性Ｏの修飾。一部の場合には、修飾は、核酸中の対象位置の全てで生じるが、多くの場合、生じない。例として

、修飾は、３’または５’末端位置でのみ生じる場合があり、末端領域においてのみ、例えば、鎖の末端ヌクレオチド上の位置で、または最後の２、３、４、５もしくは１０ヌクレオチドにおいて生じる場合がある。修飾は、二本鎖領域、一本鎖領域または両方において生じる場合がある。修飾は、ＲＮＡの二本鎖領域においてのみ生じる場合があり、またはＲＮＡの一本鎖領域においてのみ生じる場合がある。例えば、非連結性Ｏ位置でのホスホロチオエート修飾は、一方または両方の末端でのみ生じる場合があり、末端領域においてのみ、例えば、鎖の末端ヌクレオチド上の位置で、または最後の２、３、４、５もしくは１０ヌクレオチドにおいて生じる場合があり、または二本鎖および一本鎖領域において、特に、末端で生じる場合がある。５’端または両端がリン酸化され得る。

【０３７９】

例えば、安定性を増強すること、オーバーハング中に特定の塩基を含めること、または一本鎖オーバーハング中、例えば、５’もしくは３’オーバーハング中、または両方中に修飾されたヌクレオチドもしくはヌクレオチド代替物を含めることが可能であり得る。例えば、オーバーハング中にプリンヌクレオチドを含めることが望ましいものであり得る。一部の実施形態において、３’または５’オーバーハング中の塩基の全てまたは一部が、例えば、本明細書に記載される修飾で修飾され得る。修飾は、例えば、当技術分野で公知である修飾でのリボース糖の２’位置での修飾の使用、例えば、核酸塩基のリボ糖の代わりに、２’－デオキシ－２’－フルオロ（２’－Ｆ）または２’－Ｏ－メチル修飾された、デオキシリボヌクレオチドの使用、およびリン酸基における修飾、例えば、ホスホロチオエート修飾を含み得る。オーバーハングは、標的配列と相同である必要はない。

【０３８０】

一部の実施形態において、センス鎖およびアンチセンス鎖の各残基は、ＬＮＡ、ＨＮＡ、ＣｅＮＡ、２’－メトキシエチル、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－アリル、２’－Ｃ－アリル、２’－デオキシ、または２’－フルオロで独立に修飾される。鎖は、２以上の修飾を含有し得る。一部の実施形態において、センス鎖およびアンチセンス鎖の各残基は、２’－Ｏ－メチルまたは２’－フルオロで独立に修飾される。これらの修飾は、アンチセンス鎖中に存在する二重鎖の少なくとも１つの熱的不安定化修飾に追加されるということは理解されるべきである。

【０３８１】

少なくとも２つの異なる修飾は通常、センス鎖およびアンチセンス鎖上に存在する。それらの２つの修飾は、２’－デオキシ、２’－Ｏ－メチルまたは２’－フルオロ修飾、非環式ヌクレオチドなどであり得る。一部の実施形態において、センス鎖およびアンチセンス鎖は各々、２’－Ｏ－メチルまたは２’－デオキシから選択される２つの異なって修飾されたヌクレオチドを含む。一部の実施形態において、センス鎖およびアンチセンス鎖の各残基は、２’－Ｏ－メチルヌクレオチド、２’－デオキシヌクレオチド、２’－デオキシ－２’－フルオロヌクレオチド、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２’－Ｏ－ＮＭＡ）ヌクレオチド、２’－Ｏ－ジメチルアミノエトキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）ヌクレオチド、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）ヌクレオチドまたは２’－アラ－Ｆヌクレオチドで独立に修飾される。やはり、これらの修飾は、アンチセンス鎖中に存在する二重鎖の少なくとも１つの熱的不安定化修飾に追加されるということは理解されるべきである。

【０３８２】

一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、特に、Ｂ１、Ｂ２、Ｂ３、Ｂ１’、Ｂ２’、Ｂ３’、Ｂ４’領域における交互パターンの修飾を含む。「交互モチーフ」または「交互パターン」という用語は、本明細書において使用される場合、１つまたは複数の修飾を有するモチーフを指し、各修飾は、１つの鎖の交互ヌクレオチドで生じる。交互ヌクレオチドとは、１つおきのヌクレオチド毎に１つまたは３ヌクレオチド毎に１つまたは同様のパターンを指す場合がある。例えば、Ａ、ＢおよびＣが各々、ヌクレオチドへの修飾の１つのタイプを表す場合には、交互モチーフは、「ＡＢＡＢＡＢＡＢＡＢ…」、「ＡＡＢＢＡＡＢＢＡＡＢＢ…」、「ＡＡＢＡＡＢＡＡＢＡＡＢ…」、「ＡＡＡＢＡＡＡ

ＢＡＡＡＢ…」、「ＡＡＢＢＢＡＡＡＢＢＢ…」または「ＡＢＣＡＢＣＡＢＣＡＢＣ…」などであり得る。

【０３８３】

交互モチーフ中に含有される修飾のタイプは、同一である場合も、異なっている場合もある。例えば、Ａ、Ｂ、Ｃ、Ｄが各々、ヌクレオチド上の修飾の１つのタイプを表す場合には、交互ターン、すなわち、１つおきのヌクレオチド上の修飾は、同一である場合があるが、センス鎖またはアンチセンス鎖の各々は、「ＡＢＡＢＡＢ…」、「ＡＣＡＣＡＣ…」、「ＢＤＢＤＢＤ…」または「ＣＤＣＤＣＤ…」などといった交互モチーフ内の修飾のいくつかの可能性から選択され得る。

【０３８４】

一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、アンチセンス鎖上の交互モチーフの修飾パターンに対してシフトされているセンス鎖上の交互モチーフの修飾パターンを含む。シフトは、センス鎖のヌクレオチドの修飾された基が、アンチセンス鎖のヌクレオチドの異なって修飾された基に対応するようなものであり得る、逆もまた同様。例えば、センス鎖は、ｄｓＲＮＡ二本鎖中のアンチセンス鎖と対形成される場合には、センス鎖中の交互モチーフは、鎖の５’－３’から「ＡＢＡＢＡＢ」で開始する場合があり、アンチセンス鎖中の交互モチーフは、二重鎖領域内の鎖の３’－５’から「ＢＡＢＡＢＡ」で開始する場合がある。別の例として、センス鎖中の交互モチーフは、鎖の５’－３’から「ＡＡＢＢＡＡＢＢ」で開始する場合があり、アンチセンス鎖中の交互モチーフは、二重鎖領域内の鎖の３’－５’に「ＢＢＡＡＢＢＡＡ」で開始する場合があり、その結果、センス鎖とアンチセンス鎖の間で修飾パターンの完全なまたは部分的なシフトがある。

【０３８５】

本開示のｄｓＲＮＡ分子は、少なくとも１つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結をさらに含み得る。ホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結修飾は、鎖の任意の位置においてセンス鎖またはアンチセンス鎖または両方の任意のヌクレオチドで生じ得る。例えば、ヌクレオチド間連結修飾は、センス鎖もしくはアンチセンス鎖上のどのヌクレオチドでも生じる可能性があり、各ヌクレオチド間連結修飾は、センス鎖もしくはアンチセンス鎖上で交互パターンで生じ得る、またはセンス鎖もしくはアンチセンス鎖は、交互パターンで両方のヌクレオチド間連結修飾を含む。センス鎖上のヌクレオチド間連結修飾の交互パターンは、アンチセンス鎖と同一である場合も、異なっている場合もあり、センス鎖上のヌクレオチド間連結修飾の交互パターンは、アンチセンス鎖上のヌクレオチド間連結修飾の交互パターンに対してシフトを有する場合がある。

【０３８６】

一部の実施形態において、ｄｓＲＮＡ分子は、オーバーハング領域中にホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結修飾を含む。例えば、オーバーハング領域は、２つのヌクレオチドの間にホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結を有する２つのヌクレオチドを含む。ヌクレオチド間連結修飾はまた、オーバーハングヌクレオチドを二重鎖領域内の末端の対形成されるヌクレオチドと連結するように行われ得る。例えば、少なくとも２、３、４または全てのオーバーハングヌクレオチドを、ホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結によって連結でき、オーバーハングヌクレオチドを、オーバーハングヌクレオチドと隣接する対形成されるヌクレオチドと連結するさらなるホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結があってもよい。例えば、３ヌクレオチドのうち２つがオーバーハングヌクレオチドであり、３番目は、オーバーハングヌクレオチドに隣接する対形成されるヌクレオチドである、末端の３ヌクレオチドの間に少なくとも２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結があり得る。好ましくは、これらの末端の３ヌクレオチドは、アンチセンス鎖の３’端であり得る。

【０３８７】

一部の実施形態において、ｄｓＲＮＡ分子のセンス鎖は、１、２、３、４、５、６、７

、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５または１６のリン酸ヌクレオチド間連結によってわけられる、２～１０のホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結の１～１０のブロックを含み、ホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結の１つは、オリゴヌクレオチド配列中の任意の位置に配置され、前記センス鎖は、ホスホロチオエート、メチルホスホネートおよびリン酸ヌクレオチド間連結の任意の組合せを含むアンチセンス鎖と、またはホスホロチオエートもしくはメチルホスホネートもしくはリン酸連結のいずれかを含むアンチセンス鎖と対形成される。

【０３８８】

一部の実施形態において、ｄｓＲＮＡ分子のアンチセンス鎖は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７または１８のリン酸ヌクレオチド間連結によってわけられる、２つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結の２つのブロックを含み、ホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結のうち１つは、オリゴヌクレオチド配列中の任意の位置に配置され、前記アンチセンス鎖は、ホスホロチオエート、メチルホスホネートおよびリン酸ヌクレオチド間連結の任意の組合せを含むセンス鎖と、ホスホロチオエートもしくはメチルホスホネートもしくはリン酸連結のいずれかを含むアンチセンス鎖と対形成される。

【０３８９】

一部の実施形態において、ｄｓＲＮＡ分子のアンチセンス鎖は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５または１６のリン酸ヌクレオチド間連結によってわけられる、３つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結の２つのブロックを含み、ホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結のうち１つは、オリゴヌクレオチド配列中の任意の位置に配置され、前記アンチセンス鎖は、ホスホロチオエート、メチルホスホネートおよびリン酸ヌクレオチド間連結の任意の組合せを含むセンス鎖と、またはホスホロチオエートもしくはメチルホスホネートもしくはリン酸連結のいずれかを含むアンチセンス鎖と対形成される。

【０３９０】

一部の実施形態において、ｄｓＲＮＡ分子のアンチセンス鎖は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３または１４のリン酸ヌクレオチド間連結によってわけられる、４つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結の２つのブロックを含み、ホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結のうち１つは、オリゴヌクレオチド配列中の任意の位置に配置され、前記アンチセンス鎖は、ホスホロチオエート、メチルホスホネートおよびリン酸ヌクレオチド間連結の任意の組合せを含むセンス鎖と、またはホスホロチオエートもしくはメチルホスホネートもしくはリン酸連結のいずれかを含むアンチセンス鎖と対形成される。

【０３９１】

一部の実施形態において、ｄｓＲＮＡ分子のアンチセンス鎖は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１または１２のリン酸ヌクレオチド間連結によってわけられる、５つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結の２つのブロックを含み、ホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結のうち１つは、オリゴヌクレオチド配列中の任意の位置に配置され、前記アンチセンス鎖は、ホスホロチオエート、メチルホスホネートおよびリン酸ヌクレオチド間連結の任意の組合せを含むセンス鎖と、またはホスホロチオエートもしくはメチルホスホネートもしくはリン酸連結のいずれかを含むアンチセンス鎖と対形成される。

【０３９２】

一部の実施形態において、ｄｓＲＮＡ分子のアンチセンス鎖は、１、２、３、４、５、６、７、８、９または１０のリン酸ヌクレオチド間連結によってわけられる、６つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結の２つのブロックを含み、ホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結のうち１つは、オリゴヌクレオチド配列中の任意の位置に配置され、前記アンチセンス鎖は、ホスホロチオエート、メチルホスホネートおよびリン酸ヌクレオチド間連結の任意の組合せを含むセンス鎖

と、またはホスホロチオエートもしくはメチルホスホネートもしくはリン酸連結のいずれかを含むアンチセンス鎖と対形成される。

【０３９３】

一部の実施形態において、ｄｓＲＮＡ分子のアンチセンス鎖は、１、２、３、４、５、６、７または８つのリン酸ヌクレオチド間連結によってわけられる、７つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結の２つのブロックを含み、ホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結のうち１つは、オリゴヌクレオチド配列中の任意の位置に配置され、前記アンチセンス鎖は、ホスホロチオエート、メチルホスホネートおよびリン酸ヌクレオチド間連結の任意の組合せを含むセンス鎖と、またはホスホロチオエートもしくはメチルホスホネートもしくはリン酸連結のいずれかを含むアンチセンス鎖と対形成される。

【０３９４】

一部の実施形態において、ｄｓＲＮＡ分子のアンチセンス鎖は、１、２、３、４、５または６つのリン酸ヌクレオチド間連結によってわけられる、８つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結の２つのブロックを含み、ホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結のうち１つは、オリゴヌクレオチド配列中の任意の位置に配置され、前記アンチセンス鎖は、ホスホロチオエート、メチルホスホネートおよびリン酸ヌクレオチド間連結の任意の組合せを含むセンス鎖と、またはホスホロチオエートもしくはメチルホスホネートもしくはリン酸連結のいずれかを含むアンチセンス鎖と対形成される。

【０３９５】

一部の実施形態において、ｄｓＲＮＡ分子のアンチセンス鎖は、１、２、３または４つのリン酸ヌクレオチド間連結によってわけられる、９つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結の２つのブロックを含み、ホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結のうち１つは、オリゴヌクレオチド配列中の任意の位置に配置され、前記アンチセンス鎖は、ホスホロチオエート、メチルホスホネートおよびリン酸ヌクレオチド間連結の任意の組合せを含むセンス鎖と、またはホスホロチオエートもしくはメチルホスホネートもしくはリン酸連結のいずれかを含むアンチセンス鎖と対形成される。

【０３９６】

一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センスまたはアンチセンス鎖の１～１０の末端位置内に１つまたは複数のホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結修飾をさらに含む。例えば、少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９または１０ヌクレオチドが、センスまたはアンチセンス鎖の一方の末端または両端でホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結によって連結され得る。

【０３９７】

一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センスまたはアンチセンス鎖の各々の二重鎖の内部領域の１～１０内に１つまたは複数のホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結修飾をさらに含む。例えば、少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９または１０ヌクレオチドが、センス鎖の５’端から数えて二重鎖領域の位置８～１６でホスホロチオエートメチルホスホネートヌクレオチド間連結によって連結され得る。ｄｓＲＮＡ分子は、１～１０の末端位置内に１つまたは複数のホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結修飾をさらに含んでもよい。

【０３９８】

一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の位置１～５内に１～５つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結修飾および位置１８～２３内に１～５つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）ならびにアンチセンス鎖の位置１および２に１～５つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結修飾および位置１８～２

３内に１～５つ（５’端から数えて）をさらに含む。
【０３９９】
一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の位置１～５内に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置１８～２３内に１つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）ならびにアンチセンス鎖の位置１および２に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置１８～２３内に２つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）をさらに含む。
【０４００】
一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の位置１～５内に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置１８～２３内に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）ならびにアンチセンス鎖の位置１および２に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置１８～２３内に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）をさらに含む。
【０４０１】
一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の位置１～５内に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置１８～２３内に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）ならびにアンチセンス鎖の位置１および２に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置１８～２３内に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）をさらに含む。
【０４０２】
一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の位置１～５内に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置１８～２３内に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）ならびにアンチセンス鎖の位置１および２に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置１８～２３内に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）をさらに含む。
【０４０３】
一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の位置１～５内に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置１８～２３内に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）ならびにアンチセンス鎖の位置１および２に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置１８～２３内に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）をさらに含む。
【０４０４】
一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の位置１～５内に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置１８～２３内に１つ（５’端から数えて）ならびにアンチセンス鎖の位置１および２に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置１８～２３内に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）をさらに含む。
【０４０５】
一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の位置１～５内に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）ならびにアンチセンス鎖の位置１および２に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置１８～２３内に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）をさらに含む。
【０４０６】
一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の位置１～５内に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）ならびにアンチセンス鎖の位置１および２に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置１８～２３内に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）をさらに含む。

【０４０７】
一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の位置１～５内に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置１８～２３内に１つ（５’端から数えて）ならびにアンチセンス鎖の位置１および２に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置１８～２３内に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）をさらに含む。
【０４０８】
一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の位置１～５内に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置１８～２３内に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）ならびにアンチセンス鎖の位置１および２に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置１８～２３内に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）をさらに含む。
【０４０９】
一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の位置１～５内に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置１８～２３内に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）ならびにアンチセンス鎖の位置１および２に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置１８～２３内に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）をさらに含む。
【０４１０】
一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の位置１および２に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置２０および２１に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）ならびにアンチセンス鎖の位置１に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置２１に１つ（５’端から数えて）をさらに含む。
【０４１１】
一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の位置１に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置２１に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）ならびにアンチセンス鎖の位置１および２に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置２０および２１に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）をさらに含む。
【０４１２】
一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の位置１および２に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置２１および２２に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）ならびにアンチセンス鎖の位置１に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置２１に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）をさらに含む。
【０４１３】
一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の位置１に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置２１に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）ならびにアンチセンス鎖の位置１および２に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置２１および２２に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）をさらに含む。
【０４１４】
一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の位置１および２に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置２２および２３に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）ならびにアンチセンス鎖の位置１に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置２１に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）をさらに含む。
【０４１５】
一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、センス鎖の位置１に１つのホス

ホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置２１に１つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）ならびにアンチセンス鎖の位置１および２に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および位置２３および２３に２つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾（５’端から数えて）をさらに含む。

【０４１６】

一部の実施形態において、本開示の化合物は、骨格キラル中心のパターンを含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｓｐ立体配置において少なくとも５つのヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｓｐ立体配置において少なくとも６つのヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｓｐ立体配置において少なくとも７つのヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｓｐ立体配置において少なくとも８つのヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｓｐ立体配置において少なくとも９つのヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｓｐ立体配置において少なくとも１０のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｓｐ立体配置において少なくとも１１のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｓｐ立体配置において少なくとも１２のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｓｐ立体配置において少なくとも１３のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｓｐ立体配置において少なくとも１４のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｓｐ立体配置において少なくとも１５のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｓｐ立体配置において少なくとも１６のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｓｐ立体配置において少なくとも１７のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｓｐ立体配置において少なくとも１８のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｓｐ立体配置において少なくとも１９のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｒｐ立体配置において８つ以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｒｐ立体配置において７つ以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｒｐ立体配置において６つ以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｒｐ立体配置において５つ以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｒｐ立体配置において４つ以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｒｐ立体配置において３つ以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｒｐ立体配置において２つ以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｒｐ立体配置において１つ以下のヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、８つ以下のキラルではないヌクレオチド間連結を含む（非限定的な例として、ホスホジエステル）。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、７つ以下のキラルではないヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、６つ以下のキラルではないヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、５つ以下のキラルではないヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、４つ以下のキラルではないヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、３つ以下のキラルではないヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、２つ以

下のキラルではないヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、１つ以下のキラルではないヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｓｐ立体配置において少なくとも１０のヌクレオチド間連結および８つ以下のキラルではないヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｓｐ立体配置において少なくとも１１のヌクレオチド間連結および７つ以下のキラルではないヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｓｐ立体配置において少なくとも１２のヌクレオチド間連結および６つ以下のキラルではないヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｓｐ立体配置において少なくとも１３のヌクレオチド間連結および６つ以下のキラルではないヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｓｐ立体配置において少なくとも１４のヌクレオチド間連結および５つ以下のキラルではないヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、骨格キラル中心の一般的なパターンは、Ｓｐ立体配置において少なくとも１５のヌクレオチド間連結および４つ以下のキラルではないヌクレオチド間連結を含む。一部の実施形態において、Ｓｐ立体配置におけるヌクレオチド間連結は、連続であってもよく、連続でなくてもよい。一部の実施形態において、Ｒｐ立体配置におけるヌクレオチド間連結は、連続であってもよく、連続でなくてもよい。一部の実施形態において、キラルではないヌクレオチド間連結は、連続であってもよく、連続でなくてもよい。

【０４１７】

一部の実施形態において、本開示の化合物は、立体化学ブロックであるブロックを含む。一部の実施形態において、ブロックは、ブロックの各ヌクレオチド間連結がＲｐである点でＲｐブロックである。一部の実施形態において、５’－ブロックは、Ｒｐブロックである。一部の実施形態において、３’－ブロックは、Ｒｐブロックである。一部の実施形態において、ブロックは、ブロックの各ヌクレオチド間連結がＳｐである点でＳｐブロックである。一部の実施形態において、５’－ブロックは、Ｓｐブロックである。一部の実施形態において、３’－ブロックは、Ｓｐブロックである。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、ＲｐおよびＳｐブロックの両方を含む。一部の実施形態において、提供されたオリゴヌクレオチドは、１つまたは複数のＲｐを含むが、Ｓｐブロックを含まない。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、１つまたは複数のＳｐを含むが、Ｒｐブロックを含まない。一部の実施形態において、提供されるオリゴヌクレオチドは、１つまたは複数の、各ヌクレオチド間連結が天然リン酸連結であるＰＯブロックを含む。

【０４１８】

一部の実施形態において、本開示の化合物は、各糖部分が２’－Ｆ修飾を含むＳｐブロックである５’－ブロックを含む。一部の実施形態において、５’－ブロックは、ヌクレオチド間連結の各々が、修飾されたヌクレオチド間連結であり、各糖部分が、２’－Ｆ修飾を含むＳｐブロックである。一部の実施形態において、５’－ブロックは、ヌクレオチド間連結の各々が、ホスホロチオエート連結であり、各糖部分が、２’－Ｆ修飾を含むＳｐブロックである。一部の実施形態において、５’－ブロックは、４以上のヌクレオシド単位を含む。一部の実施形態において、５’－ブロックは、５以上のヌクレオシド単位を含む。一部の実施形態において、５’－ブロックは、６以上のヌクレオシド単位を含む。一部の実施形態において、５’－ブロックは、７以上のヌクレオシド単位を含む。一部の実施形態において、３’－ブロックは、各糖部分が、２’－Ｆ修飾を含むＳｐブロックである。一部の実施形態において、３’－ブロックは、ヌクレオチド間連結の各々が、修飾されたヌクレオチド間連結であり、各糖部分が、２’－Ｆ修飾を含むＳｐブロックである。一部の実施形態において、３’－ブロックは、ヌクレオチド間連結の各々が、ホスホロチオエート連結であり、各糖部分が２’－Ｆ修飾を含むＳｐブロックである。一部の実施形態において、３’－ブロックは、４以上のヌクレオシド単位を含む。一部の実施形態において、３’－ブロックは、５以上のヌクレオシド単位を含む。一部の実施形態において、３’

－ブロックは、６以上のヌクレオシド単位を含む。一部の実施形態において、３’－ブロックは、７以上のヌクレオシド単位を含む。

【０４１９】

一部の実施形態において、本開示の化合物は、領域中にあるタイプのヌクレオシドを含み、またはオリゴヌクレオチドに、特定のタイプのヌクレオチド間連結、例えば、天然のリン酸連結、修飾されたヌクレオチド間連結、Ｒｐキラルヌクレオチド間連結、Ｓｐキラルヌクレオチド間連結などが続く。一部の実施形態において、Ａに、Ｓｐが続く。一部の実施形態において、Ａに、Ｒｐが続く。一部の実施形態において、Ａに、天然のリン酸連結（ＰＯ）が続く。一部の実施形態において、Ｕに、Ｓｐが続く。一部の実施形態において、Ｕに、Ｒｐが続く。一部の実施形態において、Ｕに、天然のリン酸連結（ＰＯ）が続く。一部の実施形態において、Ｃに、Ｓｐが続く。一部の実施形態において、Ｃに、Ｒｐが続く。一部の実施形態において、Ｃに、天然のリン酸連結（ＰＯ）が続く。一部の実施形態において、Ｇに、Ｓｐが続く。一部の実施形態において、Ｇに、Ｒｐが続く。一部の実施形態において、Ｇに、天然のリン酸連結（ＰＯ）が続く。一部の実施形態において、ＣおよびＵに、Ｓｐが続く。一部の実施形態において、ＣおよびＵに、Ｒｐが続く。一部の実施形態において、ＣおよびＵに、天然のリン酸連結（ＰＯ）が続く。一部の実施形態において、ＡおよびＧに、Ｓｐが続く。一部の実施形態において、ＡおよびＧに、Ｒｐが続く。

【０４２０】

一部の実施形態において、アンチセンス鎖は、ヌクレオチド位置２１と２２の間およびヌクレオチド位置２２と２３の間にホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含み、アンチセンス鎖は、アンチセンス鎖のシード領域に（すなわち、アンチセンス鎖の５’端の位置２～９に）位置する二重鎖の少なくとも１つの熱的不安定化修飾を含有し、ｄｓＲＮＡは、以下の特徴のうち少なくとも１つ（例えば、１、２、３、４、５、６、７または８つ全て）をさらに有してもよい：（ｉ）アンチセンスは、２、３、４、５または６つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｉｉ）アンチセンスは、３、４または５つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、（ｉｉｉ）センス鎖は、リガンドとコンジュゲートされる、（ｉｖ）センス鎖は、２、３、４または５つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｖ）センス鎖は、１、２、３、４または５つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、（ｖｉ）ｄｓＲＮＡは、少なくとも４つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｖｉｉ）ｄｓＲＮＡは、１２～４０ヌクレオチド対の長さの二重鎖領域を含む、および（ｖｉｉｉ）ｄｓＲＮＡは、アンチセンス鎖の５’端に平滑末端を有する。

【０４２１】

一部の実施形態において、アンチセンス鎖は、ヌクレオチド位置１と２の間、ヌクレオチド位置２と３の間、ヌクレオチド位置２１と２２の間およびヌクレオチド位置２２と２３の間にホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含み、アンチセンス鎖は、アンチセンス鎖のシード領域に（すなわち、アンチセンス鎖の５’端の位置２～９に）位置する二重鎖の少なくとも１つの熱的不安定化修飾を含有し、ｄｓＲＮＡは、以下の特徴のうち少なくとも１つ（例えば、１、２、３、４、５、６、７または８つ全て）をさらに有してもよい：（ｉ）アンチセンスは、２、３、４、５または６つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｉｉ）センス鎖は、リガンドとコンジュゲートされる、（ｉｉｉ）センス鎖は、２、３、４または５つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｉｖ）センス鎖は、１、２、３、４または５つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、（ｖ）ｄｓＲＮＡは、少なくとも４つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｖｉ）ｄｓＲＮＡは、１２～４０ヌクレオチド対の長さの二重鎖領域を含む、（ｖｉｉ）ｄｓＲＮＡは、１２～４０ヌクレオチド対の長さの二重鎖領域を含む、および（ｖｉｉｉ）ｄｓＲＮＡは、アンチセンス鎖の５’端に平滑末端を有する。

【０４２２】

一部の実施形態において、センス鎖は、ヌクレオチド位置１と２の間、ヌクレオチド位置２と３の間にホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含み、アンチセンス鎖は、アン

チセンス鎖のシード領域に（すなわち、アンチセンス鎖の５’端の位置２～９に）位置する二重鎖の少なくとも１つの熱的不安定化修飾を含有し、ｄｓＲＮＡは、以下の特徴のうち少なくとも１つ（例えば、１、２、３、４、５、６、７または８つ全て）をさらに有してもよい：（ｉ）アンチセンスは、２、３、４、５または６つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｉｉ）アンチセンスは、１、２、３、４または５つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、（ｉｉｉ）センス鎖は、リガンドとコンジュゲートされる、（ｉｖ）センス鎖は、２、３、４または５つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｖ）センス鎖は、３、４または５つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、（ｖｉ）ｄｓＲＮＡは、少なくとも４つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｖｉｉ）ｄｓＲＮＡは、１２～４０ヌクレオチド対の長さの二重鎖領域を含む、および（ｖｉｉｉ）ｄｓＲＮＡは、アンチセンス鎖の５’端に平滑末端を有する。

【０４２３】

一部の実施形態において、センス鎖は、ヌクレオチド位置１と２の間およびヌクレオチド位置２と３の間にホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含み、アンチセンス鎖は、ヌクレオチド位置１と２の間、ヌクレオチド位置２と３の間、ヌクレオチド位置２１と２２の間およびヌクレオチド位置２２と２３の間にホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含み、アンチセンス鎖は、アンチセンス鎖のシード領域に（すなわち、アンチセンス鎖の５’端の位置２～９に）位置する二重鎖の少なくとも１つの熱的不安定化修飾を含有し、ｄｓＲＮＡは、以下の特徴のうち少なくとも１つ（例えば、１、２、３、４、５、６または７つ全て）をさらに有してもよい：（ｉ）アンチセンスは、２、３、４、５または６つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｉｉ）センス鎖は、リガンドとコンジュゲートされる、（ｉｉｉ）センス鎖は、２、３、４または５つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｉｖ）センス鎖は、３、４または５つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む、（ｖ）ｄｓＲＮＡは、少なくとも４つの２’－フルオロ修飾を含む、（ｖｉ）ｄｓＲＮＡは、１２～４０ヌクレオチド対の長さの二重鎖領域を含む、および（ｖｉｉ）ｄｓＲＮＡは、アンチセンス鎖の５’端に平滑末端を有する。

【０４２４】

一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、標的との、二本鎖内のミスマッチ（複数可）またはそれらの組合せを含む。ミスマッチは、オーバーハング領域または二重鎖領域中に生じ得る。塩基対は、解離または融解を促進するその傾向に基づいてランク付けできる（例えば、特定の対形成の会合または解離の自由エネルギーで、最も簡単なアプローチは、個々の対に基づいて対を調べることであるが、次の隣接分析または同様の分析も使用できる）。解離の促進の点では：Ａ：ＵはＧ：Ｃを上回って好ましく、Ｇ：ＵはＧ：Ｃを上回って好ましく、Ｉ：ＣはＧ：Ｃを上回って好ましい（Ｉ＝イノシン）。ミスマッチ、例えば、非正準対形成または正準対形成以外のもの（本明細書において別の場所で記載されるような）は、正準（Ａ：Ｔ、Ａ：Ｕ、Ｇ：Ｃ）対形成を上回って好ましく、ユニバーサル塩基を含む対形成は正準対形成を上回って好ましい。

【０４２５】

一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、二本鎖の５’端でのアンチセンス鎖の解離を促進するために、Ａ：Ｕ、Ｇ：Ｕ、Ｉ：Ｃおよびミスマッチ対、例えば、非正準対形成または正準対形成以外のものまたはユニバーサル塩基を含む対形成の群から独立に選択され得る、アンチセンス鎖の５’端から二重鎖領域内の最初の１、２、３、４または５つの塩基対のうち少なくとも１つを含む。

【０４２６】

一部の実施形態において、アンチセンス鎖中の５’端から二重鎖領域内の１位置のヌクレオチドは、Ａ、ｄＡ、ｄＵ、ＵおよびｄＴからなる群から選択される。あるいは、アンチセンス鎖の５’端から二重鎖領域内の最初の１、２または３つの塩基対のうち少なくとも１つは、ＡＵ塩基対である。例えば、アンチセンス鎖の５’端から二重鎖領域内の最初の塩基対は、ＡＵ塩基対である。

【０４２７】

一本鎖または二本鎖オリゴヌクレオチドの任意の位置で、ジヌクレオチドのホスホジエステル（ＰＯ）、ホスホロチオエート（ＰＳ）またはホスホロジチオエート（ＰＳ２）連結の３’端に、４’－修飾されたまたは５’－修飾されたヌクレオチドを導入することは、ヌクレオチド間連結に対して立体的効果を発揮し、ひいては、それをヌクレアーゼから保護し、安定化できるということが見出された。

【０４２８】

一部の実施形態において、５’－修飾されたヌクレオシドが、一本鎖または二本鎖ｓｉＲＮＡの任意の位置でジヌクレオチドの３’端に導入される。例えば、５’－アルキル化ヌクレオシドを、一本鎖または二本鎖ｓｉＲＮＡの任意の位置でジヌクレオチドの３’端に導入できる。リボース糖の５’位置のアルキル基は、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲもしくはＳ異性体であり得る。例示的な５’－アルキル化ヌクレオシドとして、５’－メチルヌクレオシドがある。５’－メチルは、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲもしくはＳ異性体のいずれかであり得る。

【０４２９】

一部の実施形態において、４’－修飾されたヌクレオシドが、一本鎖または二本鎖ｓｉＲＮＡの任意の位置でジヌクレオチドの３’端に導入される。例えば、４’－アルキル化ヌクレオシドを、一本鎖または二本鎖ｓｉＲＮＡの任意の位置でジヌクレオチドの３’端に導入できる。リボース糖の５’位置のアルキル基は、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲもしくはＳ異性体であり得る。例示的な４’－アルキル化ヌクレオシドとして、４’－メチルヌクレオシドがある。４’－メチルは、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲもしくはＳ異性体のいずれかであり得る。あるいは、４’－Ｏ－アルキル化ヌクレオシドを、一本鎖または二本鎖ｓｉＲＮＡの任意の位置でジヌクレオチドの３’端に導入できる。リボース糖の４’－Ｏ－アルキルは、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲもしくはＳ異性体であり得る。例示的４’－Ｏ－アルキル化ヌクレオシドとして、４’－Ｏ－メチルヌクレオシドがある。４’－Ｏ－メチルは、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲもしくはＳ異性体のいずれかであり得る。

【０４３０】

一部の実施形態において、５’－アルキル化ヌクレオシドが、ｄｓＲＮＡのセンス鎖またはアンチセンス鎖の任意の位置で導入され、このような修飾は、ｄｓＲＮＡの効力を維持または改良する。５’－アルキルは、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲもしくはＳ異性体のいずれかであり得る。例示的５’－アルキル化ヌクレオシドとして、５’－メチルヌクレオシドがある。５’－メチルは、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲもしくはＳ異性体のいずれかであり得る。

【０４３１】

一部の実施形態において、４’－アルキル化ヌクレオシドが、ｄｓＲＮＡのセンス鎖またはアンチセンス鎖の任意の位置で導入され、このような修飾は、ｄｓＲＮＡの効力を維持または改良する。４’－アルキルは、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲもしくはＳ異性体のいずれかであり得る。例示的４’－アルキル化ヌクレオシドとして、４’－メチルヌクレオシドがある。４’－メチルは、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲもしくはＳ異性体のいずれかであり得る。

【０４３２】

一部の実施形態において、４’－Ｏ－アルキル化ヌクレオシドは、ｄｓＲＮＡのセンス鎖またはアンチセンス鎖の任意の位置で導入され、このような修飾は、ｄｓＲＮＡの効力を維持または改良する。５’－アルキルは、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲもしくはＳ異性体のいずれかであり得る。例示的４’－Ｏ－アルキル化ヌクレオシドとして、４’－Ｏ－メチルヌクレオシドがある。４’－Ｏ－メチルは、ラセミ体またはキラル的に純粋なＲもしくはＳ異性体のいずれかであり得る。

【０４３３】

一部の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、２’－５’連結（２’－Ｈ、２’－ＯＨおよび２’－ＯＭｅを有し、Ｐ＝ＯまたはＰ＝Ｓである）を含み得る。例えば、２’－

５’連結修飾を、ヌクレアーゼ耐性を促進するために、もしくはセンスのアンチセンス鎖への結合を阻害するために使用できる、またはＲＩＳＣによるセンス鎖活性化を避けるためにセンス鎖の５’端で使用できる。

【０４３４】

別の実施形態において、本開示のｄｓＲＮＡ分子は、Ｌ糖（例えば、２’－Ｈ、２’－ＯＨおよび２’－ＯＭｅを有するＬリボース、Ｌ－アラビノース）を含み得る。例えば、これらのＬ糖修飾を、ヌクレアーゼ耐性を促進するために、もしくはセンスのアンチセンス鎖への結合を阻害するために使用できる、またはＲＩＳＣによるセンス鎖活性化を避けるためにセンス鎖の５’端で使用できる。

【０４３５】

種々の刊行物に多量体ｓｉＲＮＡが記載されており、これらは全て、本開示のｄｓＲＮＡとともに使用できる。このような刊行物には、その全体が本明細書に組み込まれるＷＯ２００７／０９１２６９、ＵＳ７８５８７６９、ＷＯ２０１０／１４１５１１、ＷＯ２００７／１１７６８６、ＷＯ２００９／０１４８８７およびＷＯ２０１１／０３１５２０が含まれる。

【０４３６】

以下により詳細に記載されるように、ＲＮＡｉ剤への１つまたは複数の炭水化物部分のコンジュゲーションを含有するＲＮＡｉ剤は、ＲＮＡｉ剤の１つまたは複数の特性を改善できる。多くの場合、炭水化物部分を、ＲＮＡｉ剤の修飾されたサブユニットに付着させる。例えば、ｄｓＲＮＡ剤の１つまたは複数のリボヌクレオチドサブユニットのリボース糖を別の部分、例えば、炭水化物リガンドが付着される非炭水化物（好ましくは、環式）担体と置き換えることができる。サブユニットのリボース糖がそのように置き換えられているリボヌクレオチドサブユニットは、本明細書において、リボース置き換え修飾サブユニット（ＲＲＭＳ）と呼ばれる。環式担体は、炭素環系であり得る、すなわち、全ての環原子は、炭素原子であるか、または複素環式環構造、すなわち、１つまたは複数の環原子は、ヘテロ原子、例えば、窒素、酸素、硫黄であり得る。環式担体は、単環式環構造であり得る、または２つ以上の環、例えば、縮合環を含有し得る。環式担体は、完全飽和環構造であり得る、または１つもしくは複数の二重結合を含有し得る。

【０４３７】

リガンドは、担体を介してポリヌクレオチドに付着させることができる。担体は、（ｉ）少なくとも１つの「骨格付着点」、好ましくは、２つの「骨格付着点」ならびに（ｉｉ）少なくとも１つの「繋留付着点」を含む。「骨格付着点」とは、本明細書において使用される場合、官能基、例えば、ヒドロキシル基、または、一般的に、骨格、例えば、リボ核酸のリン酸または修飾されたリン酸、例えば、硫黄含有骨格への担体の組み込みのために利用可能な、およびそれに適している結合を指す。「繋留付着点」（ＴＡＰ）とは、一部の実施形態において、選択された部分を接続する環式担体の構成物環原子、例えば、炭素原子またはヘテロ原子（骨格付着点を提供する原子とは別個）を指す。部分は、例えば、炭水化物、例えば、単糖、二糖、三糖、四糖、オリゴ糖および多糖であり得る。選択された部分は、介在するテザーによって環式担体に接続されてもよい。したがって、環式担体は、官能基、例えば、アミノ基を含む、または一般的に、構成物環への、別の化学実体、例えば、リガンドの組み込みもしくは繋留に適している結合を提供することが多いであろう。

【０４３８】

ＲＮＡｉ剤は、担体を介してリガンドにコンジュゲートされる場合があり、担体は、環式基または非環式基であり得る。環式基は、ピロリジニル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、［１，３］ジオキソラン、オキサゾリジニル、イソオキサゾリジニル、モルホリニル、チアゾリジニル、イソチアゾリジニル、キノキサリニル、ピリダジノニル、テトラヒドロフリル、およびデカリニルから選択することができる。非環式基は、セリノール骨格またはジエタノールアミン骨格であり得る。

【０４３９】
ある特定の具体的実施形態において、本開示の方法において使用するためのＲＮＡｉ剤は、表３または４のいずれか１つにおいて列挙される薬剤の群から選択される薬剤である。

【０４４０】
ＩＶ．リガンドにコンジュゲートされたｉＲＮＡ
本発明のｉＲＮＡのＲＮＡの別の修飾は、ｉＲＮＡを１つまたは複数のリガンド、ｉＲＮＡの活性、細胞分布または例えば、細胞への細胞取り込みを増強する部分またはコンジュゲートと化学的に連結することを含む。このような部分として、それだけには限らないが、コレステロール部分などの脂質部分（Letsinger et al., Proc. Natl. Acid. Sci. USA, 1989, 86: 6553-6556）、コール酸（Manoharan et al., Biorg. Med. Chem. Let., 1994, 4:1053-1060）、チオエーテル、例えば、ベリル－Ｓ－トリチルチオール（Manoharan et al., Ann. N.Y. Acad. Sci., 1992, 660:306-309; Manoharan et al., Biorg. Med. Chem. Let., 1993, 3:2765-2770）、チオコレステロール（Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20:533-538）、脂肪鎖、例えば、ドデカンジオールまたはウンデシル残基（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－グリセロールまたはトリエチル－アンモニウム１，２－ジ－Ｏ－ヘキサデシル－ｒａｃ－グリセロ－３－ホスホネート（Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36:3651-3654、Shea et al., Nucl. Acids Res., 1990, 18:3777-3783）、ポリアミンまた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（Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36:3651-3654）、パルミチル部分（Mishra et al., Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264:229-237）またはオクタデシルアミンまたはヘキシルアミノ－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）が挙げられる。

【０４４１】
ある特定の実施形態において、リガンドは、それが組み込まれるｉＲＮＡ剤の分布、標的化または寿命を変更する。一部の実施形態において、リガンドは、例えば、このようなリガンドが存在しない種と比較されるように、選択された標的、例えば、分子、細胞または細胞種、コンパートメント、例えば、細胞のまたは臓器のコンパートメント、組織、器官または身体の領域に対する親和性の増強を提供する。通常のリガンドは、二本鎖核酸において二重鎖対形成に関与しない。

【０４４２】
リガンドとして、天然に存在する物質、例えば、タンパク質（例えば、ヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）、低密度リポタンパク質（ＬＤＬ）またはグロブリン）、炭水化物（例えば、デキストラン、プルラン、キチン、キトサン、イヌリン、シクロデキストリンまたはヒアルロン酸）または脂質を挙げることができる。リガンドはまた、組換えまたは合成分子、例えば、合成ポリマー、例えば、合成ポリアミノ酸であり得る。ポリアミノ酸の例として、ポリリジン（ＰＬＬ）、ポリＬ－アスパラギン酸、ポリＬ－グルタミン酸であるポリアミノ酸、スチレン－無水マレイン酸共重合体、ポリ（Ｌ－ラクチド－ｃｏ－グリコリド（ｇｌｙｃｏｌｉｅｄ））共重合体、ジビニルエーテル－無水マレイン酸共重合体、Ｎ－（２－ヒドロキシプロピル）メタクリルアミド共重合体（ＨＭＰＡ）、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、ポリビニルアルコール（ＰＶＡ）、ポリウレタン、ポリ（２－エチルアクリル酸（ｅｔｈｙｌａｃｒｙｌｌｉｃ　ａｃｉｄ））、Ｎ－イソプロピルアクリルアミドポリマーまたはポリホスファジンが挙げられる。ポリアミンの例として、ポリエチレンイミン、ポリリジン（ＰＬＬ）、スペルミン、スペルミジン、ポリアミン、シュードペプチド－ポリアミン、ペプチドミメティックポリアミン、デンドリマーポリアミン、アルギニン、アミジン、プロタミン、カチオン性脂質、カチオン性ポルフィリン、ポリアミ

ンの第四級塩またはαヘリックスペプチドが挙げられる。

【０４４３】

リガンドにはまた、標的化基、例えば、細胞または組織標的化剤、例えば、レクチン、糖タンパク質、脂質またはタンパク質、例えば、特定の細胞種、例えば、腎臓細胞に結合する抗体が含まれ得る。標的化基は、甲状腺刺激ホルモン、メラニン細胞刺激ホルモン、レクチン、糖タンパク質、界面活性剤プロテインＡ、ムチン炭水化物、多価ラクトース、多価ガラクトース、Ｎ－アセチル－ガラクトサミン、Ｎ－アセチル－グルコサミン多価マンノース、多価フコース、グリコシル化ポリアミノ酸、多価ガラクトース、トランスフェリン、ビスホスホネート、ポリグルタミン酸、ポリアスパラギン酸、脂質、コレステロールステロイド、胆汁酸、葉酸、ビタミンＢ１２、ビオチンまたはＲＧＤペプチドもしくはＲＧＤペプチドミメティックであり得る。ある特定の実施形態において、リガンドは、多価ガラクトース、例えば、Ｎ－アセチル－ガラクトサミンである。

【０４４４】

リガンドの他の例として、色素、インターカレート剤（例えば、アクリジン）、架橋剤（例えば、プソラレン、マイトマイシンＣ）、ポルフィリン（ＴＰＰＣ４、テキサフィリン、サッフィリン（Ｓａｐｐｈｙｒｉｎ））、多環式芳香族炭化水素（例えば、フェナジン、ジヒドロフェナジン）、人工エンドヌクレアーゼ（例えば、ＥＤＴＡ）、親油性分子、例えば、コレステロール、コール酸、アダマンタン酢酸、１－ピレン酪酸、ジヒドロテストステロン、１，３－ビス－Ｏ（ヘキサデシル）グリセロール、ゲラニルオキシヘキシル基、ヘキサデシルグリセロール、ボルネオール、メントール、１，３－プロパンジオール、ヘプタデシル基、パルミチン酸、ミリスチン酸、Ｏ３－（オレオイル）リトコール酸、Ｏ３－（オレオイル）コレン酸、ジメトキシトリチルまたはフェノキサジン）およびペプチドコンジュゲート（例えば、アンテナペディアペプチド、Ｔａｔペプチド）、アルキル化剤、リン酸、アミノ、メルカプト、ＰＥＧ（例えば、ＰＥＧ－４０Ｋ）、ｍＰＥＧ、［ｍＰＥＧ］$_2$、ポリアミノ、アルキル、置換アルキル、放射標識マーカー、酵素、ハプテン（例えば、ビオチン）、輸送／吸収促進物質（例えば、アスピリン、ビタミンＥ、葉酸）、合成リボヌクレアーゼ（例えば、イミダゾール、ビスイミダゾール、ヒスタミン、イミダゾールクラスター、アクリジン－イミダゾールコンジュゲート、テトラアザ大環状分子のＥｕ３＋複合体）、ジニトロフェニル、ＨＲＰまたはＡＰが挙げられる。

【０４４５】

リガンドは、タンパク質、例えば、糖タンパク質またはペプチド、例えば、共リガンドに対して特異的親和性を有する分子または抗体、例えば、がん細胞、内皮細胞または骨細胞などの特定の細胞種に結合する抗体であり得る。リガンドにはまた、ホルモンおよびホルモン受容体が含まれ得る。それらにはまた、非ペプチド種、例えば、脂質、レクチン、炭水化物、ビタミン、補助因子、多価ラクトース、多価ガラクトース、Ｎ－アセチル－ガラクトサミン、Ｎ－アセチル－グルコサミン多価マンノースまたは多価フコースが含まれ得る。リガンドは、例えば、リポ多糖、ｐ３８　ＭＡＰキナーゼのアクチベーターまたはＮＦ－κＢのアクチベーターであり得る。

【０４４６】

リガンドは、例えば、細胞の細胞骨格を破壊することによって、例えば、細胞の微小管、微小線維または中間径線維を破壊することによってｉＲＮＡ剤の細胞への取り込みを増大し得る物質、例えば、薬物であり得る。薬物は、例えば、タキソン、ビンクリスチン、ビンブラスチン、サイトカラシン、ノコダゾール、ジャスプラキノリド、ラトルンクリンＡ、ファロイジン、スウィンホリドＡ、インダノシンまたはミオセルビンであり得る。

【０４４７】

一部の実施形態において、本明細書に記載されるようなｉＲＮＡに付着されるリガンドは、薬物動態モジュレーター（ＰＫモジュレーター）として作用する。ＰＫモジュレーターには、親油性物質、胆汁酸、ステロイド、リン脂質類似体、ペプチド、タンパク質結合剤、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、ビタミンなどが含まれる。例示的ＰＫモジュレーターとして、それだけには限らないが、コレステロール、脂肪酸、コール酸、リトコー

ル酸、ジアルキルグリセリド、ジアシルグリセリド、リン脂質、スフィンゴ脂質、ナプロキセン、イブプロフェン、ビタミンＥ、ビオチンなどが挙げられる。いくつかのホスホロチオエート連結を含むオリゴヌクレオチドはまた、血清タンパク質に結合すると知られており、従って、短いオリゴヌクレオチド、例えば、骨格中に複数のホスホロチオエート連結を含む、約５塩基、１０塩基、１５塩基または２０塩基のオリゴヌクレオチドはまた、リガンドとして（例えば、ＰＫモジュレーティングリガンドとして）本発明に適している。さらに、血清構成成分（例えば、血清タンパク質）に結合するアプタマーも、本明細書に記載される実施形態においてＰＫモジュレーティングリガンドとして使用するのに適している。

【０４４８】

本発明のリガンドがコンジュゲートされたｉＲＮＡは、ペンダント反応性官能性を有する、例えば、オリゴヌクレオチド上への連結分子の付着に由来する（以下に記載される）オリゴヌクレオチドの使用によって合成できる。この反応性オリゴヌクレオチドを、市販のリガンド、種々の保護基のいずれかを有する合成されているリガンドまたはそれに付着された連結部分を有するリガンドと直接反応させることができる。

【０４４９】

本発明のコンジュゲートにおいて使用されるオリゴヌクレオチドは、固相合成の公知の技術によって好都合に、日常的に作製できる。このような合成のための機器は、例えば、Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）（カリフォルニア州、フォスターシティ）を含むいくつかのベンダーによって販売されている。当技術分野で公知のこのような合成のための任意の他の手段をさらに、または代わりに使用してもよい。他のオリゴヌクレオチド、例えば、ホスホロチオエートおよびアルキル化誘導体を調製するために同様の技術を使用することも公知である。

【０４５０】

本発明のリガンドがコンジュゲートされたオリゴヌクレオチドおよびリガンド－配列特異的な連結されたヌクレオシドを有する分子では、オリゴヌクレオチドおよびオリゴヌクレオシドを、標準ヌクレオチドもしくはヌクレオシド前駆体または連結部分をすでに有するヌクレオチドもしくはヌクレオシドコンジュゲート前駆体、リガンド分子をすでに有するリガンド－ヌクレオチドもしくはヌクレオシドコンジュゲート前駆体またはビルディングブロックを有する非ヌクレオシドリガンドを利用して適したＤＮＡシンセサイザーで組み立てることができる。

【０４５１】

連結部分をすでに有するヌクレオチド－コンジュゲート前駆体を使用する場合には、配列特異的な連結されたヌクレオシドの合成が通常完了され、次いで、リガンド分子が連結部分と反応されて、リガンドがコンジュゲートされたオリゴヌクレオチドが形成される。一部の実施形態において、本発明のオリゴヌクレオチドまたは連結されたヌクレオシドは、市販されており、オリゴヌクレオチド合成において日常的に使用される標準ホスホラミダイトおよび非標準ホスホラミダイトに加えて、リガンド－ヌクレオシドコンジュゲートに由来するホスホラミダイトを使用して自動化シンセサイザーによって合成される。

【０４５２】

Ａ．脂質コンジュゲート

ある特定の実施形態において、リガンドまたはコンジュゲートは、脂質または脂質ベースの分子である。このような脂質または脂質ベースの分子は、通常、血清タンパク質、例えば、ヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）に結合できる。ＨＳＡ結合性リガンドは、身体の標的組織、例えば、非腎臓標的組織へのコンジュゲートの分布を可能にする。例えば、標的組織は、脳または肝臓であり得る。ＨＳＡに結合できる他の分子も、リガンドとして使用できる。例えば、ナプロキセンまたはアスピリンを使用できる。脂質または脂質ベースのリガンドは、（ａ）コンジュゲートの分解に対する耐性を増大できる、（ｂ）標的細胞もしくは細胞膜中への標的化もしくは輸送を増大できる、または（ｃ）血清タンパク質、例えば、ＨＳＡへの結合を調整できる。

【０４５３】
脂質ベースのリガンドを使用して、コンジュゲートの標的組織への結合をモジュレート、例えば、管理（例えば、阻害）できる。例えば、より強力にＨＳＡに結合する脂質または脂質ベースのリガンドは、腎臓へ標的化される可能性が低く、したがって、身体から排除される可能性が低くなる。あまり強力にＨＳＡに結合しない脂質または脂質ベースのリガンドは、コンジュゲートを腎臓に標的化するために使用できる。
【０４５４】
ある特定の実施形態において、脂質ベースのリガンドは、ＨＳＡに結合する。例えば、リガンドは、十分な親和性でＨＳＡに結合でき、その結果、非腎臓組織へのコンジュゲートの分布が増強される。しかし、親和性は、通常、ＨＳＡ－リガンド結合を元に戻すことができないほど強力ではない。
【０４５５】
ある特定の実施形態において、脂質ベースのリガンドは、ＨＳＡに弱く結合するか、全く結合せず、その結果、腎臓へのコンジュゲートの分布が増強される。脂質ベースのリガンドの代わりに、またはそれに加えて、腎臓細胞を標的化する他の部分も使用できる。
【０４５６】
別の態様では、リガンドは、標的細胞、例えば、増殖している細胞によって取り込まれる部分、例えば、ビタミンである。これらは、例えば、悪性または非悪性種、例えば、がん細胞の望まれない細胞増殖を特徴とする障害の処置にとって特に有用である。例示的ビタミンとして、ビタミンＡ、ＥおよびＫが挙げられる。他の例示的ビタミンとして、Ｂビタミン、例えば、葉酸、Ｂ１２、リボフラビン、ビオチン、ピリドキサールまたはがん細胞によって取り込まれる他のビタミンもしくは栄養素が挙げられる。また、ＨＳＡおよび低比重リポタンパク質（ＬＤＬ）も含まれる。
【０４５７】
Ｂ．細胞透過剤
別の態様では、リガンドは、細胞透過剤、例えば、ヘリックス細胞透過剤である。ある特定の実施形態において、これらの細胞透過剤は、両親媒性である。例示的細胞透過剤として、ペプチド、例えば、ｔａｔまたはアンテナペディア（ａｎｔｅｎｎｏｐｅｄｉａ）がある。薬剤がペプチドである場合は、修飾される場合があり、ペプチジルミメティック、逆転異性体、非ペプチドまたはシュードペプチド連結およびＤ－アミノ酸の使用を含む。ヘリックス剤は、通常、α－ヘリックス剤であり、親油性および疎油性相を有し得る。
【０４５８】
リガンドは、ペプチドまたはペプチドミメティックであり得る。ペプチドミメティック（本明細書においてオリゴペプチドミメティックとも呼ばれる）は、天然ペプチドと類似する規定の三次元構造にフォールディング可能な分子である。ペプチドおよびペプチドミメティックのｉＲＮＡ剤への付着は、細胞認識および吸収を増強することなどによって、ｉＲＮＡの薬物動態分布に影響を及ぼし得る。ペプチドまたはペプチドミメティック部分は、約５～５０アミノ酸長、例えば、約５、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５または５０アミノ酸長であり得る。
【０４５９】
ペプチドまたはペプチドミメティックは、例えば、細胞透過ペプチド、カチオン性ペプチド、両親媒性ペプチドまたは疎水性ペプチド（例えば、主にＴｙｒ、ＴｒｐまたはＰｈｅからなる）であり得る。ペプチド部分は、デンドリマーペプチド、拘束ペプチドまたは架橋ペプチドであり得る。別の代替法では、ペプチド部分は、疎水性膜移行配列（ＭＴＳ）を含み得る。例示的な疎水性ＭＴＳ含有ペプチドとして、アミノ酸配列ＡＡＶＡＬＬＰＡＶＬＬＡＬＬＡＰ（配列番号３）を有するＲＦＧＦがある。疎水性ＭＴＳを含有するＲＦＧＦ類似体（例えば、アミノ酸配列ＡＡＬＬＰＶＬＬＡＡＰ（配列番号４））も、標的化部分であり得る。ペプチド部分は、細胞膜を横切ってペプチド、オリゴヌクレオチドおよびタンパク質を含む大きな極性分子を運ぶことができる、「送達」ペプチドであり得る。例えば、ＨＩＶ　Ｔａｔタンパク質に由来する配列（ＧＲＫＫＲＲＱＲＲＲＰＰＱ（配

列番号５））およびショウジョウバエアンテナペディアタンパク質に由来する配列（ＲＱＩＫＩＷＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫ（配列番号６））は、送達ペプチドとして機能化能であると見出されている。ペプチドまたはペプチドミメティックは、ファージディスプレイライブラリーまたは１－ビーズ－１－化合物（ＯＢＯＣ）コンビナトリアルライブラリー（Lam et al., Nature, 354:82-84, 1991）から同定されるペプチドなどの、ＤＮＡのランダム配列によってコードされ得る。通常、組み込まれたモノマー単位を介してｄｓＲＮＡ剤に繋留されるペプチドまたはペプチドミメティックとして、細胞標的化ペプチド、例えば、アルギニン－グリシン－アスパラギン酸（ＲＧＤ）－ペプチドまたはＲＧＤミミックがある。ペプチド部分は、約５アミノ酸～約４０アミノ酸長の範囲であり得る。ペプチド部分は、例えば、安定性または直接的な立体配座特性を増大する構造修飾を有し得る。以下に記載される構造修飾のいずれも利用できる。

【０４６０】

本発明の組成物および方法において使用するためのＲＧＤペプチドは、線状である場合も、環状である場合もあり、特定の組織（複数可）への標的化を促進するように修飾される、例えば、グリコシル化またはメチル化される場合もある。ＲＧＤ含有ペプチドおよびペプチドミメティックは、Ｄ－アミノ酸ならびに合成ＲＧＤミミックを含み得る。ＲＧＤに加えて、インテグリンリガンドを標的化する他の部分を使用できる。ある特定の実施形態において、このリガンドのコンジュゲートは、ＰＥＣＡＭ－１またはＶＥＧＦを標的化する。

【０４６１】

ＲＧＤペプチド部分を、特定の細胞種、例えば、腫瘍細胞、例えば、内皮腫瘍細胞または乳がん腫瘍細胞を標的化するために使用できる（Zitzmann et al., Cancer Res., 62:5139-43, 2002）。ＲＧＤペプチドは、ｄｓＲＮＡ剤の肺、腎臓、脾臓または肝臓を含むさまざまな他の組織の腫瘍への標的化を促進できる（Aoki et al., Cancer Gene Therapy 8:783-787, 2001）。通常、ＲＧＤペプチドは、ｉＲＮＡ剤の腎臓への標的化を促進する。ＲＧＤペプチドは、線状である場合も、環状である場合もあり、特定の組織（複数可）への標的化を促進するように修飾される、例えば、グリコシル化またはメチル化される場合もある。例えば、グリコシル化ＲＧＤペプチドは、ｉＲＮＡ剤を$\alpha_v\beta_3$を発現する腫瘍細胞に送達できる（Haubner et al., Jour. Nucl. Med., 42:326-336, 2001）。

【０４６２】

「細胞透過ペプチド」は、細胞、例えば、微生物細胞、例えば、細菌もしくは真菌細胞または哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞に透過可能である。微生物細胞透過性ペプチドは、例えば、α－ヘリックス線状ペプチド（例えば、ＬＬ－３７またはセロピンＰ１）、ジスルフィド結合含有ペプチド（例えば、α－デフェンシン、β－デフェンシンまたはバクテネシン）または１つもしくは２つの優性アミノ酸のみを含有するペプチド（例えば、ＰＲ－３９またはインドリシジン）であり得る。細胞透過ペプチドはまた、核局在性シグナル（ＮＬＳ）を含み得る。例えば、細胞透過ペプチドは、例えば、ＨＩＶ－１　ｇｐ４１とＳＶ４０ラージＴ抗原のＮＬＳの融合ペプチドドメインに由来するＭＰＧなどの二分両親媒性ペプチドであり得る（Simeoni et al., Nucl. Acids Res. 31:2717-2724, 2003）。

【０４６３】

Ｃ．炭水化物コンジュゲート

本発明の組成物および方法の一部の実施形態において、ｉＲＮＡは、炭水化物をさらに含む。炭水化物がコンジュゲートされたｉＲＮＡは、本明細書に記載されるような、核酸ならびにインビボ治療的使用に適した組成物のインビボ送達にとって有利である。本明細書において使用される場合、「炭水化物」とは、各炭素原子に結合された酸素、窒素もしくは硫黄原子とともに少なくとも６個の炭素原子（線状、分岐または環状であり得る）を有する１つもしくは複数の単糖単位で構成されている炭水化物自体またはその一部として、各炭素原子に結合された酸素、窒素もしくは硫黄原子とともに各々少なくとも６個の炭

素原子（線状、分岐または環状であり得る）を有する１または複数の単糖単位で構成されている炭水化物部分を有する化合物のいずれかである化合物を指す。代表的な炭水化物として、糖（単糖、二糖、三糖および約４、５、６、７、８または９つの単糖単位を含有するオリゴ糖）ならびに多糖、例えば、デンプン、グリコーゲン、セルロースおよび多糖ゴムが挙げられる。特定の単糖として、Ｃ５が挙げられ、上記の（例えば、Ｃ５、Ｃ６、Ｃ７またはＣ８）糖、二糖および三糖は、２つまたは３つの単糖単位有する糖（例えば、Ｃ５、Ｃ６、Ｃ７またはＣ８）を含む。

【０４６４】

ある特定の実施形態において、炭水化物コンジュゲートは、単糖を含む。

【０４６５】

ある特定の実施形態において、単糖は、Ｎ－アセチルガラクトサミン（ＧａｌＮＡｃ）である。１つまたは複数のＮ－アセチルガラクトサミン（ＧａｌＮＡｃ）誘導体を含むＧａｌＮＡｃコンジュゲートは、例えば、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれるＵＳ８，１０６，０２２に記載されている。一部の実施形態において、ＧａｌＮＡｃコンジュゲートは、ｉＲＮＡを特定の細胞に標的化するリガンドとして働く。一部の実施形態において、ＧａｌＮＡｃコンジュゲートは、例えば、肝臓細胞（例えば、肝細胞）のアシアロ糖タンパク質受容体のリガンドとして働くことによってｉＲＮＡを肝臓細胞に標的化する。

【０４６６】

一部の実施形態において、炭水化物コンジュゲートは、１つまたは複数のＧａｌＮＡｃ誘導体を含む。ＧａｌＮＡｃ誘導体は、リンカー、例えば、二価または三価分岐リンカーを介して付着させることができる。一部の実施形態において、ＧａｌＮＡｃコンジュゲートは、センス鎖の３’端にコンジュゲートされる。一部の実施形態において、ＧａｌＮＡｃコンジュゲートは、リンカー、例えば、本明細書に記載されるようなリンカーを介してｉＲＮＡ剤に（例えば、センス鎖の３’端に）コンジュゲートされる。一部の実施形態において、ＧａｌＮＡｃコンジュゲートは、センス鎖の５’端にコンジュゲートされる。一部の実施形態において、ＧａｌＮＡｃコンジュゲートは、リンカー、例えば、本明細書に記載されるようなリンカーを介してｉＲＮＡ剤に（例えば、センス鎖の５’端に）コンジュゲートされる。

【０４６７】

本発明のある特定の実施形態において、ＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体を、一価リンカーを介して本発明のｉＲＮＡ剤に付着させる。一部の実施形態において、ＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体を、二価リンカーを介して本発明のｉＲＮＡ剤に付着させる。本発明のさらに他の実施形態において、ＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体を、三価リンカーを介して本発明のｉＲＮＡ剤に付着させる。本発明の他の実施形態において、ＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体を、四価リンカーを介して本発明のｉＲＮＡ剤に付着させる。

【０４６８】

ある特定の実施形態において、本発明の二本鎖ＲＮＡｉ剤は、ｉＲＮＡ剤に付着された１つのＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体を含む。ある特定の実施形態において、本発明の二本鎖ＲＮＡｉ剤は、複数の一価リンカーを介して二本鎖ＲＮＡｉ剤の複数のヌクレオチドに各々独立に付着された、複数の（例えば、２、３、４、５または６つの）ＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体を含む。

【０４６９】

一部の実施形態において、例えば、本発明のｉＲＮＡ剤の２つの鎖が、複数の対形成されないヌクレオチドを含むヘアピンループを形成する、一方の鎖の３’端とそれぞれの他方の鎖の５’端との間の中断されていないヌクレオチドの鎖によって接続された、１つのより大きい分子の一部である場合には、ヘアピンループ内の対形成されないヌクレオチドは各々独立に、一価リンカーを介して付着されたＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体を含み得る。ヘアピンループはまた、二重鎖の一つの鎖における延長されたオーバーハン

グによって形成される場合もある。

【０４７０】

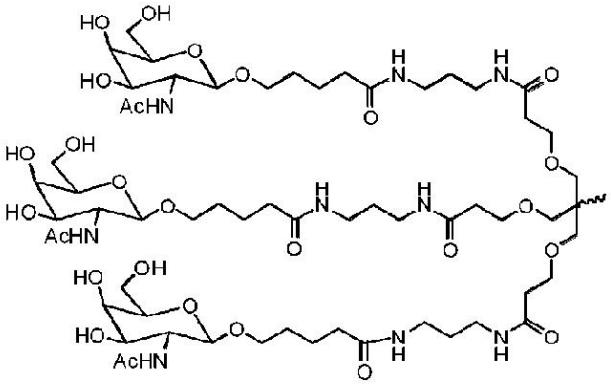
一部の実施形態において、例えば、本発明のｉＲＮＡ剤の２つの鎖が、複数の対形成されないヌクレオチドを含むヘアピンループを形成する、一方の鎖の３’端とそれぞれの他方の鎖の５’端との間の中断されていないヌクレオチドの鎖によって接続された、１つのより大きい分子の一部である場合には、ヘアピンループ内の対形成されないヌクレオチドは各々独立に、一価リンカーを介して付着されたＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体を含み得る。ヘアピンループはまた、二本鎖のうち１つの鎖における延長されたオーバーハングによって形成される場合もある。

【０４７１】

一部の実施形態において、ＧａｌＮＡｃコンジュゲートは、

【０４７２】

【化１７】



式II

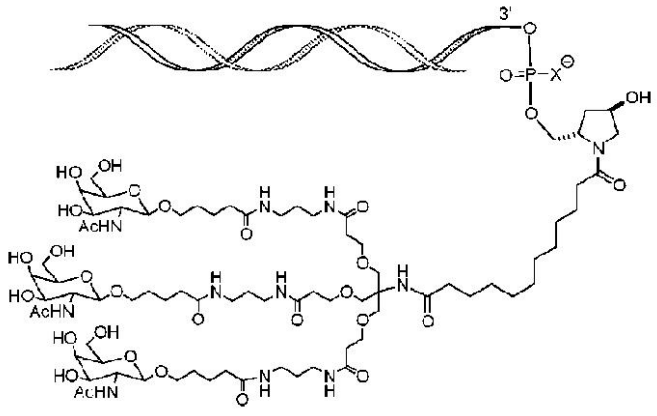
である。

【０４７３】

一部の実施形態において、ＲＮＡｉ剤は、以下の模式図で示されるようにリンカーを介して炭水化物コンジュゲートに付着され、式中、Ｘは、ＯまたはＳである。

【０４７４】

【化１８】

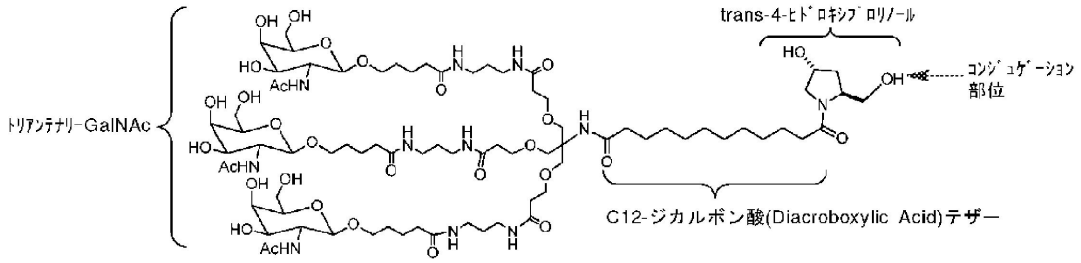


【０４７５】

一部の実施形態において、ＲＮＡｉ剤は、表２において定義され、以下に示されるようなＬ９６にコンジュゲートされる：

【０４７６】

【化１９】

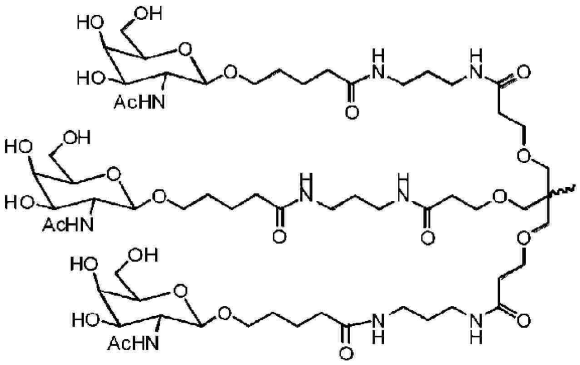


【０４７７】

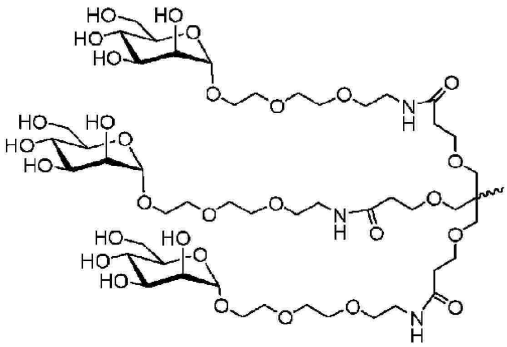
ある特定の実施形態において、本発明の組成物および方法において使用するための炭水化物コンジュゲートは、以下からなる群から選択される：

【０４７８】

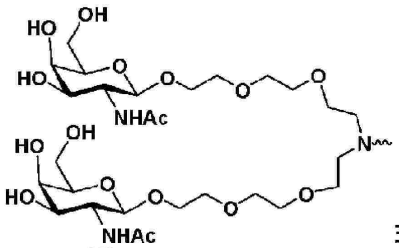
【化２０】



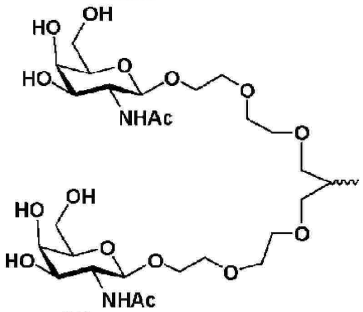
式II、



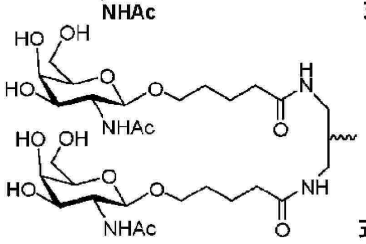
式III、



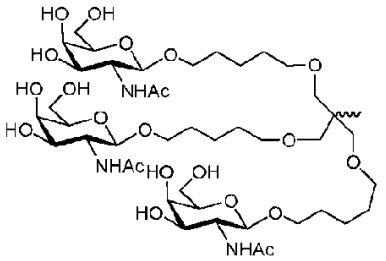
式IV、



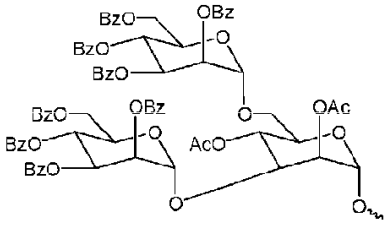
式V、



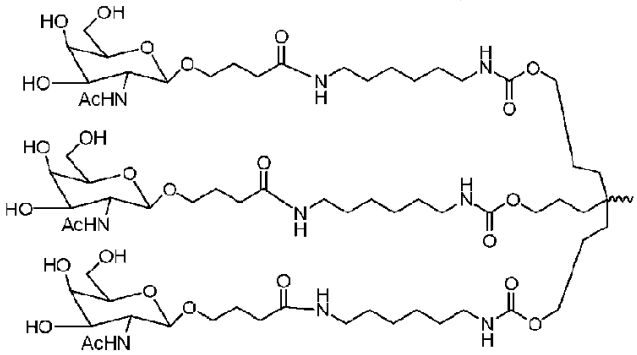
式VI、



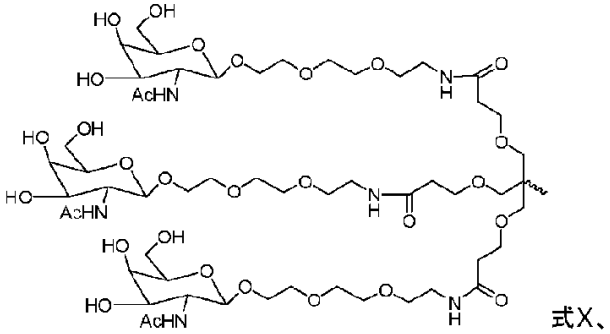
式VII、



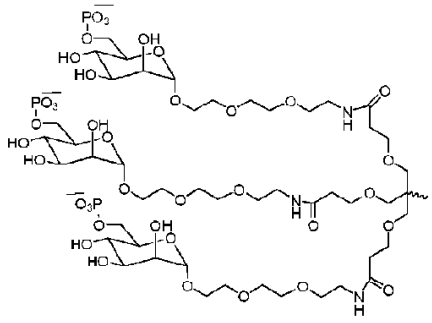
式VIII、



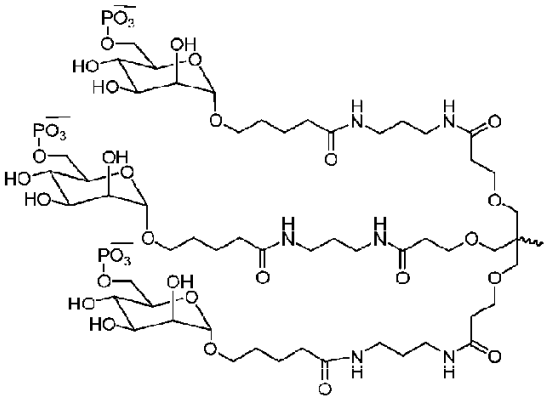
式IX、



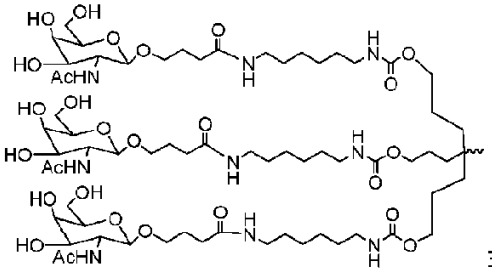
式X、



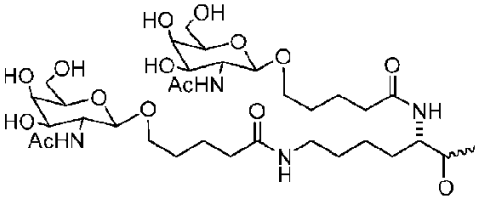
式XI、



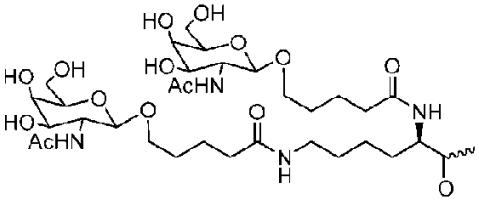
式XII、



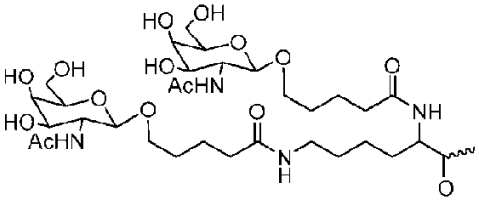
式XIII、



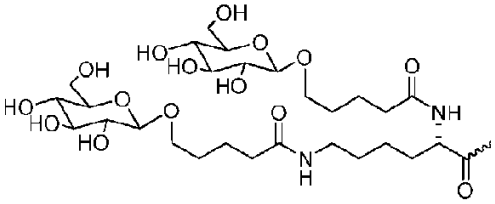
式XIV、



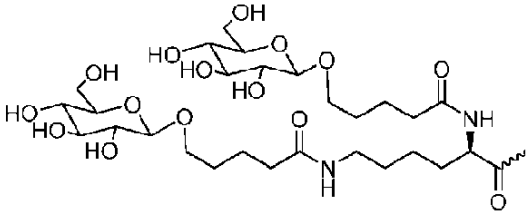
式XV、



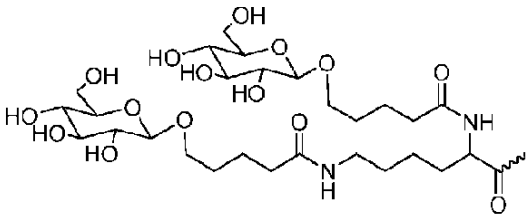
式XVI、



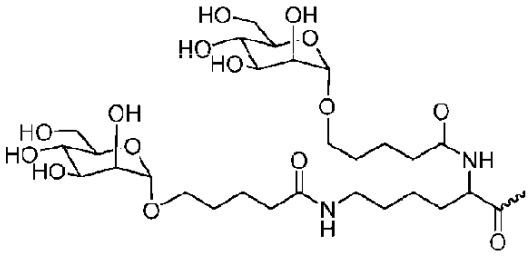
式XVII、



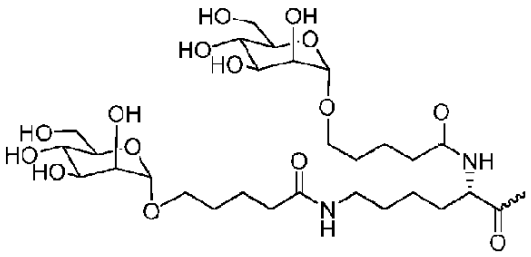
式XVIII、



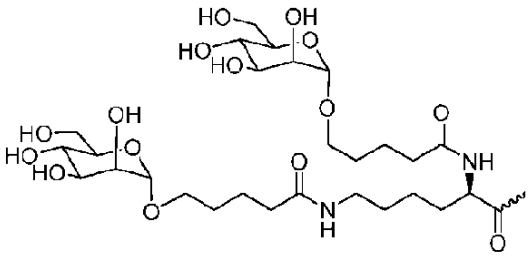
式XIX、



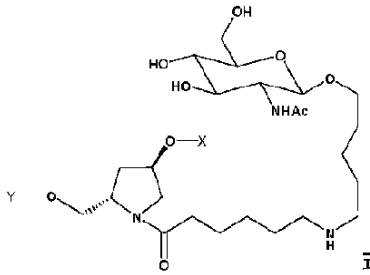
式XX、



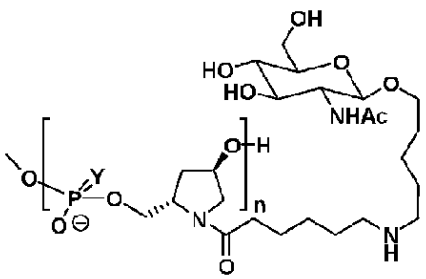
式XXI、



式XXII、



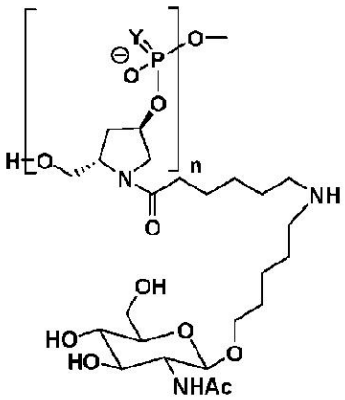
式XXIII;



［式中、Ｙは、ＯまたはＳであり、ｎは、３～６である］（式ＸＸＩＶ）；

【０４７９】

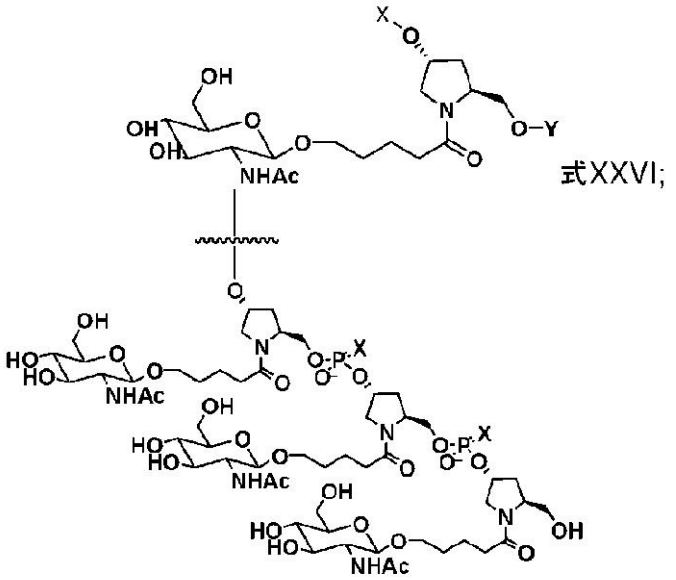
【化２１】



［式中、Ｙは、ＯまたはＳであり、ｎは、３～６である］（式ＸＸＶ）；

【０４８０】

【化２２】

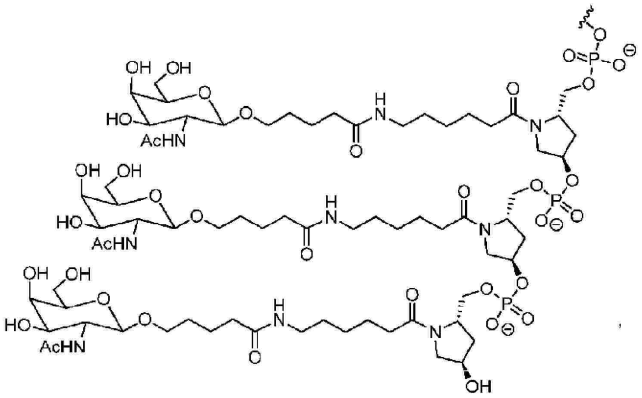


式XXVI;

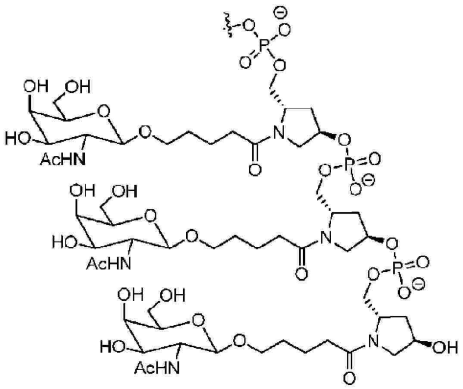
［式中、Ｘは、ＯまたはＳである］（式ＸＸＶＩＩ）；

【０４８１】

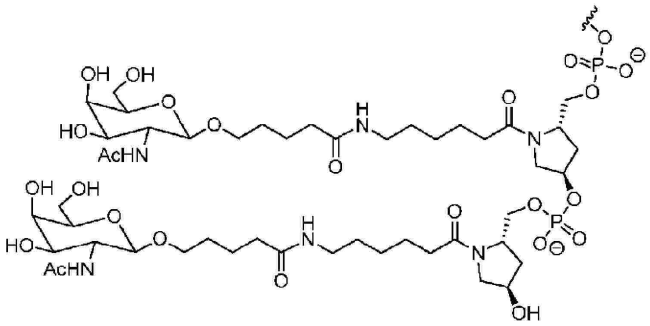
【化２３】



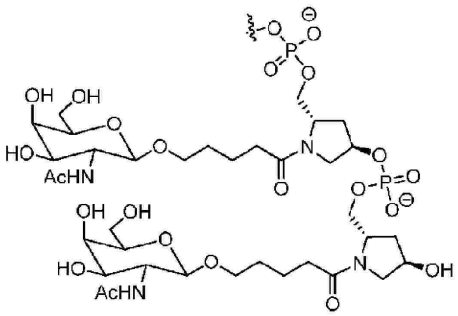
式XXVIII;



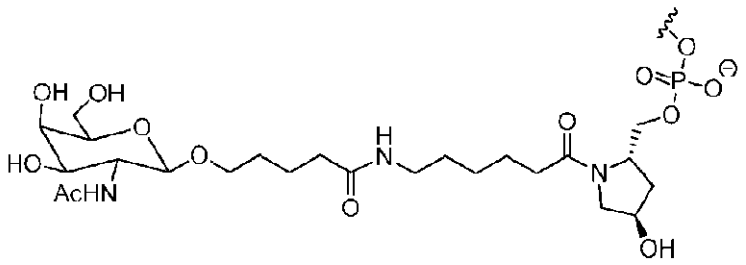
式XXIX;



式XXX;

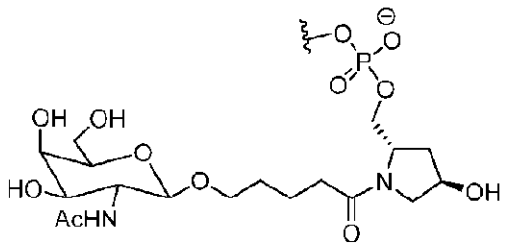


式XXXI;

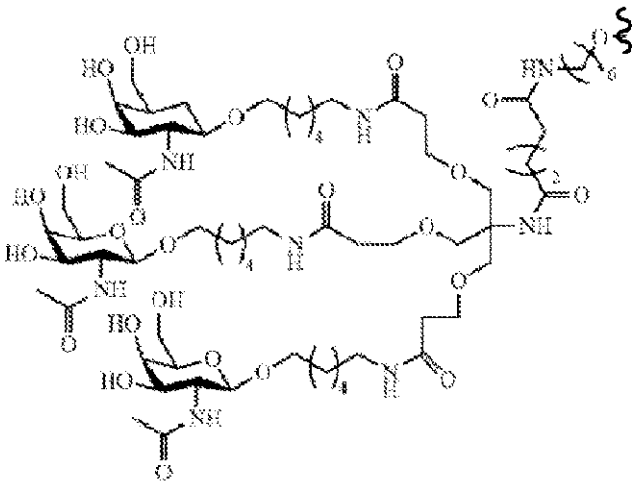


, および

式XXXII



式XXXIII。



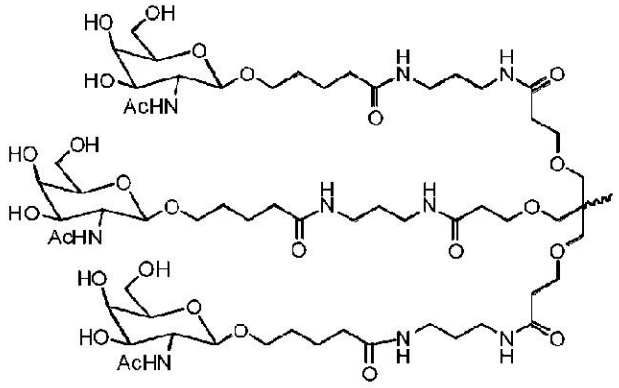
式XXXIV。

【０４８２】

ある特定の実施形態において、本発明の組成物および方法において使用するための炭水化物コンジュゲートは、単糖である。ある特定の実施形態において、単糖は、Ｎ－アセチルガラクトサミン、例えば、

【０４８３】

【化２４】



式II

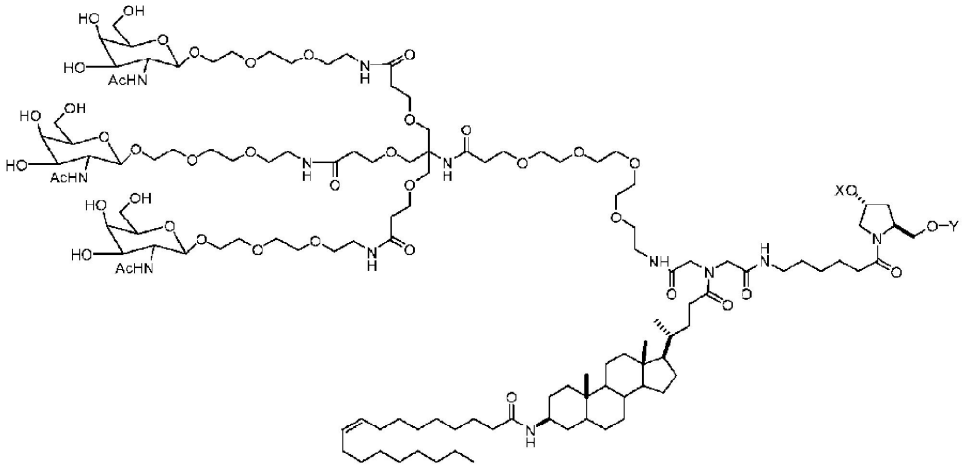
である。

【０４８４】

本明細書に記載される実施形態において使用するための別の代表的な炭水化物コンジュゲートとして、それだけには限らないが、

【０４８５】

【化２５】



(式XXXVI)

[ＸまたはＹのうち一方が、オリゴヌクレオチドである場合は、もう一方は、水素である]

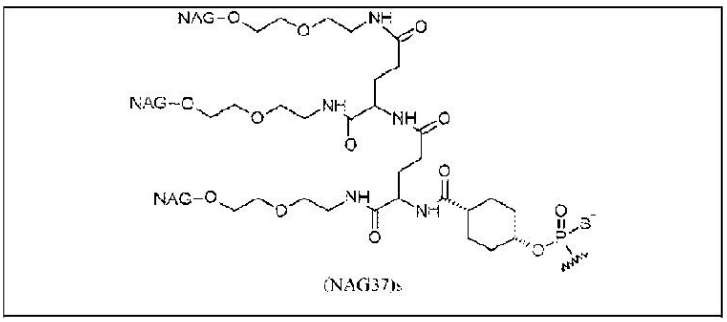
が挙げられる。

【０４８６】

一部の実施形態において、適したリガンドは、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれるＷＯ２０１９／０５５６３３において開示されるリガンドである。一実施形態において、リガンドは、以下の構造：

【０４８７】

【化２６】



を含む。

【０４８８】

ある特定の実施形態において、本開示のＲＮＡｉ剤は、ＧａｌＮＡｃリガンドを、このようなＧａｌＮＡｃリガンドが現在、本開示の髄腔内／ＣＮＳ送達経路（複数可）にとって限定された価値のものであると予測されている場合であっても含み得る。

【０４８９】

本発明のある特定の実施形態において、ＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体を、一価リンカーを介して本発明のｉＲＮＡ剤に付着させる。一部の実施形態において、ＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体を、二価リンカーを介して本発明のｉＲＮＡ剤に付着させる。本発明のさらに他の実施形態において、ＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体を、三価リンカーを介して本発明のｉＲＮＡ剤に付着させる。

【０４９０】

一実施形態において、本発明の二本鎖ＲＮＡｉ剤は、ｉＲＮＡ剤に付着された１つまたは複数のＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体を含む。ＧａｌＮＡｃは、センス鎖またはアンチセンス鎖上のリンカーを介して任意のヌクレオチドに付着させることができる。ＧａｌＮａｃは、センス鎖の５’端、センス鎖の３’端、アンチセンス鎖の５’端またはアンチセンス鎖の３’端に付着させることができる。一実施形態において、ＧａｌＮＡｃを、例えば、三価リンカーを介してセンス鎖の３’端に付着させる。

【０４９１】

他の実施形態において、本発明の二本鎖ＲＮＡｉ剤は、複数のリンカー、例えば、一価リンカーを介して二本鎖ＲＮＡｉ剤の複数のヌクレオチド各々独立に付着された、複数の（例えば、２、３、４、５または６つの）ＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体を含む。

【０４９２】

一部の実施形態において、例えば、本発明のｉＲＮＡ剤の２つの鎖が、複数の対形成されないヌクレオチドを含むヘアピンループを形成する、一方の鎖の３’端と、それぞれのもう一方の鎖の５’端の間のヌクレオチドの中断されない鎖によって接続された１つの大きな分子の一部である場合には、ヘアピンループ内の対形成されないヌクレオチドは各々、一価リンカーを介して付着されたＧａｌＮＡｃまたはＧａｌＮＡｃ誘導体を独立に含み得る。

【０４９３】

一部の実施形態において、炭水化物コンジュゲートは、それだけには限らないが、ＰＫモジュレーターまたは細胞透過ペプチドなどの、上記のような１または複数のさらなるリガンドをさらに含む。

【０４９４】

本発明において使用するのに適したさらなる炭水化物コンジュゲートおよびリンカーとして、各々の内容全体が参照により本明細書に組み込まれる、ＷＯ２０１４／１７９６２０およびＷＯ２０１４／１７９６２７に記載されるものが挙げられる。

【０４９５】

Ｄ．リンカー

一部の実施形態において、本明細書に記載されるコンジュゲートまたはリガンドを、切断可能である場合も、切断可能でない場合もある種々のリンカーを用いてｉＲＮＡオリゴヌクレオチドに付着させることができる。

【０４９６】

「リンカー」または「連結基」という用語は、化合物の２つの部分を接続する、例えば、化合物の２つの部分を共有結合によって付着させる有機部分を意味する。リンカーは、通常、直接結合または酸素もしくは硫黄などの原子、ＮＲ８、Ｃ（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）ＮＨ、ＳＯ、SO_2、SO_2NHなどの単位またはそれだけには限らないが、１つもしくは複数のメチレンがＯ、Ｓ、Ｓ（Ｏ）、SO_2、Ｎ（Ｒ８）、Ｃ（Ｏ）によって中断または終結され得る、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換アルケニル、置換もしくは非置換アルキニル、アリールアルキル、アリールアルケニル、アリールアルキニル、ヘテロアリールアルキル、ヘテロアリールアルケニル、ヘテロアリールアルキニル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロシクリルアルケニル、ヘテロシクリルアルキニル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、シクロアルケニル、アルキルアリールアルキル、アルキルアリールアルケニル、アルキルアリールアルキニル、アルケニルアリールアルキル、アルケニルアリールアルケニル、アルケニルアリールアルキニル、アルキニルアリールアルキル、アルキニルアリールアルケニル、アルキニルアリールアルキニル、アルキルヘテロアリールアルキル、アルキルヘテロアリールアルケニル、アルキルヘテロアリールアルキニル、アルケニルヘテロアリールアルキル、アルケニルヘテロアリールアルケニル、アルケニルヘテロアリールアルキニル、アルキニルヘテロアリールアルキル、アルキニルヘテロアリールアルケニル、アルキニルヘテロアリールアルキニル、アルキルヘテロシクリルアルキル、アルキルヘテロシクリルアルケニル、アルキルヘテロシクリルアルキニル（ａｌｋｙｌｈｅｒｅｒｏｃｙｃｌｙｌａｌｋｙｎｙｌ）、アルケニルヘテロシクリルアルキル、アルケニルヘテロシクリルアルケニル、アルケニルヘテロシクリルアルキニル、アルキニルヘテロシクリルアルキル、アルキニルヘテロシクリルアルケニル、アルキニルヘテロシクリルアルキニル、アルキルアリール、アルケニルアリール、アルキニルアリール、アルキルヘテロアリール、アルケニルヘテロアリール、アルキニルヘテロアリール（ａｌｋｙｎｙｌｈｅｒｅｒｏａｒｙｌ）、Ｒ８が、水素、アシル、脂肪族もしくは置換脂肪族である、置換もしくは非置換アリール、置換もしくは非置換ヘテロアリール、置換もしくは非置換複素環式などの原子の鎖を含む。ある特定の実施形態において、リンカーは、約１～２４個原子、２～２４、３～２４、４～２４、５～２４、６～２４、６～１８、７～１８、８～１８個の原子、７～１７、８～１７、６～１６、７～１６または８～１６個の原子である。

【０４９７】

切断可能な連結基とは、細胞の外側で十分に安定であるが、標的細胞中に入ると、切断されて、リンカーが一緒に保持している２つの部分を放出するものである。別の実施形態において、切断可能な連結基は、対象の血液において、または第２の参照条件下（血液または血清において見出される条件を模倣または表すように選択され得る）よりも、標的細胞において、または第１の参照条件下（例えば、細胞内条件を模倣または表すように選択され得る）で、少なくとも約１０倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍またはそれより多く、または少なくとも約１００倍速く切断される。

【０４９８】

切断可能な連結基は、切断剤、例えば、ｐＨ、酸化還元電位または分解性分子の存在の影響を受けやすい。一般に、切断剤は、血清または血液においてよりも細胞の内側で、より一般的であるか、またはより高いレベルもしくは活性で見出される。このような分解剤の例として、特定の基質のために選択される、または基質特異性を有さない酸化還元剤が挙げられ、例えば、酸化酵素もしくは還元酵素または還元によって酸化還元切断可能な連結基を分解できる、細胞中に存在する、メルカプタンなどの還元剤、エステラーゼ、エンドソームまたは酸性環境を作出できる薬剤、例えば、５以下のｐＨをもたらすもの、一般

酸、ペプチダーゼ（基質特異的であり得る）およびホスファターゼとして作用することによって酸切断可能な連結基を加水分解もしくは分解できる酵素を含む。

【０４９９】

切断可能な連結基、例えば、ジスルフィド結合は、ｐＨの影響を受けやすい場合がある。ヒト血清のｐＨは７．４であるが、平均細胞内ｐＨはわずかに低く、約７．１～７．３の範囲である。エンドソームは、５．５～６．０の範囲のより酸性のｐＨを有し、リソソームは、およそ５．０のさらにより酸性のｐＨを有する。いくつかのリンカーは、選択されたｐＨで切断され、それによって、カチオン性脂質をリガンドから細胞の内側または細胞の所望のコンパートメント中に放出する、切断可能な連結基を有するであろう。

【０５００】

リンカーは、特定の酵素によって切断可能である切断可能な連結基を含み得る。リンカー中に組み込まれる切断可能な連結基の種類は、標的化されるべき細胞に応じて変わり得る。例えば、肝臓標的化リガンドを、エステル基を含むリンカーを介してカチオン性脂質に連結できる。肝臓細胞は、エステラーゼが豊富であり、したがって、リンカーは、肝臓細胞において、エステラーゼが豊富ではない細胞種よりも効率的に切断される。エステラーゼが豊富な他の細胞種として、肺、腎皮質および精巣の細胞が挙げられる。

【０５０１】

肝臓細胞および滑膜細胞などのペプチダーゼが豊富な細胞種を標的化する場合には、ペプチド結合を含有するリンカーを使用できる。

【０５０２】

一般に、候補の切断可能な連結基の適合性は、分解剤（または条件）の、候補連結基を切断する能力を試験することによって評価できる。また、血液中で、または他の非標的組織と接触する場合に、切断に抵抗する能力について候補の切断可能な連結基を試験することも望ましいであろう。したがって、第１および第２の条件の間の切断に対する相対的感受性を決定でき、第１のものは、標的細胞において切断を示すように選択され、第２のものは、他の組織または生物学的流体、例えば、血液もしくは血清において切断を示すように選択される。評価は、無細胞系において、細胞において、細胞培養物において、臓器においてまたは組織培養物において、または動物全体において実施できる。細胞不含または培養条件において最初の評価を行うことおよび動物全体におけるさらなる評価によって確認することは、有用であり得る。ある特定の実施形態において、有用な候補化合物は、血液もしくは血清（または細胞外条件を模倣するように選択されたインビトロ条件下で）と比較して、細胞において（または細胞内条件を模倣するように選択されたインビトロ条件下で）少なくとも約２、４、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０または約１００倍速く切断される。

【０５０３】

ｉ．酸化還元切断可能な連結基

ある特定の実施形態において、切断可能な連結基は、還元または酸化の際に切断される酸化還元切断可能な連結基である。還元的に切断可能な連結基の例として、ジスルフィド連結基（－Ｓ－Ｓ－）がある。候補の切断可能な連結基が適した「還元的に切断可能な連結基」であるか、または、例えば、特定のｉＲＮＡ部分および特定の標的化剤とともに使用するのに適しているか否かを決定するために、本明細書に記載される方法に目を向けることができる。例えば、細胞、例えば、標的細胞において観察されるであろう切断の速度を模倣する、当技術分野で公知の試薬を使用してジチオトレイトール（ＤＴＴ）または他の還元剤とともにインキュベートすることによって、候補を評価できる。候補はまた、血液または血清条件を模倣するように選択された条件下で評価できる。あるものでは、候補化合物は、血液において最大で約１０％切断される。他の実施形態において、有用な候補化合物は、血液（または細胞外条件を模倣するように選択されたインビトロ条件下）と比較して、細胞において（または細胞内条件を模倣するように選択されたインビトロ条件下で）少なくとも約２、４、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０または約１００倍速く分解される。候補化合物の切断の速度は、細胞外媒体を模倣するように

選択された条件と比較して、細胞内媒体を模倣するように選択された条件下で標準酵素動態学アッセイを使用して決定できる。

【０５０４】

ｉｉ．リン酸ベースの切断可能な連結基

ある特定の実施形態において、切断可能なリンカーは、リン酸ベースの切断可能な連結基を含む。リン酸ベースの切断可能な連結基は、リン酸基を分解または加水分解する薬剤によって切断される。細胞中のリン酸基を切断する薬剤の例として、細胞中のホスファターゼなどの酵素がある。リン酸ベースの連結基の例として、－Ｏ－Ｐ（Ｏ）（ＯＲｋ）－Ｏ－、－Ｏ－Ｐ（Ｓ）（ＯＲｋ）－Ｏ－、－Ｏ－Ｐ（Ｓ）（ＳＲｋ）－Ｏ－、－Ｓ－Ｐ（Ｏ）（ＯＲｋ）－Ｏ－、－Ｏ－Ｐ（Ｏ）（ＯＲｋ）－Ｓ－、－Ｓ－Ｐ（Ｏ）（ＯＲｋ）－Ｓ－、－Ｏ－Ｐ（Ｓ）（ＯＲｋ）－Ｓ－、－Ｓ－Ｐ（Ｓ）（ＯＲｋ）－Ｏ－、－Ｏ－Ｐ（Ｏ）（Ｒｋ）－Ｏ－、－Ｏ－Ｐ（Ｓ）（Ｒｋ）－Ｏ－、－Ｓ－Ｐ（Ｏ）（Ｒｋ）－Ｏ－、－Ｓ－Ｐ（Ｓ）（Ｒｋ）－Ｏ－、－Ｓ－Ｐ（Ｏ）（Ｒｋ）－Ｓ－、－Ｏ－Ｐ（Ｓ）（Ｒｋ）－Ｓ－があり、式中、Ｒｋは、各出現で独立に、Ｃ１～Ｃ２０アルキル、Ｃ１～Ｃ２０ハロアルキル、Ｃ６～Ｃ１０アリール、またはＣ７～Ｃ１２アラルキルであり得る。追加の実施形態としては、－Ｏ－Ｐ（Ｏ）（ＯＨ）－Ｏ－、－Ｏ－Ｐ（Ｓ）（ＯＨ）－Ｏ－、－Ｏ－Ｐ（Ｓ）（ＳＨ）－Ｏ－、－Ｓ－Ｐ（Ｏ）（ＯＨ）－Ｏ－、－Ｏ－Ｐ（Ｏ）（ＯＨ）－Ｓ－、－Ｓ－Ｐ（Ｏ）（ＯＨ）－Ｓ－、－Ｏ－Ｐ（Ｓ）（ＯＨ）－Ｓ－、－Ｓ－Ｐ（Ｓ）（ＯＨ）－Ｏ－、－Ｏ－Ｐ（Ｏ）（Ｈ）－Ｏ－、－Ｏ－Ｐ（Ｓ）（Ｈ）－Ｏ－、－Ｓ－Ｐ（Ｏ）（Ｈ）－Ｏ、－Ｓ－Ｐ（Ｓ）（Ｈ）－Ｏ－、－Ｓ－Ｐ（Ｏ）（Ｈ）－Ｓ－、－Ｏ－Ｐ（Ｓ）（Ｈ）－Ｓ－が挙げられ、式中、Ｒｋは、各出現で独立に、Ｃ１～Ｃ２０アルキル、Ｃ１～Ｃ２０ハロアルキル、Ｃ６～Ｃ１０アリール、またはＣ７～Ｃ１２アラルキルであり得る。ある特定の実施形態において、リン酸ベースの連結基は－Ｏ－Ｐ（Ｏ）（ＯＨ）－Ｏ－である。これらの候補は、上記のものと類似の方法を使用して評価できる。

【０５０５】

ｉｉｉ．酸切断可能な連結基

ある特定の実施形態において、切断可能なリンカーは、酸切断可能な連結基を含む。酸切断可能な連結基は、酸性条件下で切断される連結基である。一実施形態において、酸切断可能な連結基は、約６．５以下の（例えば、約６．０、５．７５、５．５、５．２５、５．０またはそれより低い）ｐＨを有する酸性環境において、または一般酸として作用できる酵素などの薬剤によって切断される。細胞では、特定の低ｐＨオルガネラ、例えば、エンドソームおよびリソソームは、酸切断可能な連結基のための切断環境を提供できる。酸切断可能な連結基の例として、それだけには限らないが、ヒドラゾン、エステルおよびアミノ酸のエステルが挙げられる。酸切断可能な基は、一般式－Ｃ＝ＮＮ－、Ｃ（Ｏ）Ｏまたは－ＯＣ（Ｏ）を有し得る。別の実施形態は、エステルの酸素と結合している炭素（アルコキシ基）が、アリール基、置換アルキル基、または第三級アルキル基、例えば、ジメチルペンチルまたはｔ－ブチルである場合である。これらの候補は、上記のものと類似の方法を使用して評価できる。

【０５０６】

ｉｖ．エステルベースの切断可能な連結基

ある特定の実施形態において、切断可能なリンカーは、エステルベースの切断可能な連結基を含む。エステルベースの切断可能な連結基は、細胞中のエステラーゼおよびアミダーゼなどの酵素によって切断される。エステルベースの切断可能な連結基の例として、それだけには限らないが、アルキレン、アルケニレンおよびアルキニレン基のエステルが挙げられる。エステル切断可能な連結基は、一般式－Ｃ（Ｏ）Ｏ－または－ＯＣ（Ｏ）－を有する。これらの候補は、上記のものと類似の方法を使用して評価できる。

【０５０７】

ｖ．ペプチドベースの切断可能な連結基

さらに別の実施形態において、切断可能なリンカーは、ペプチドベースの切断可能な連

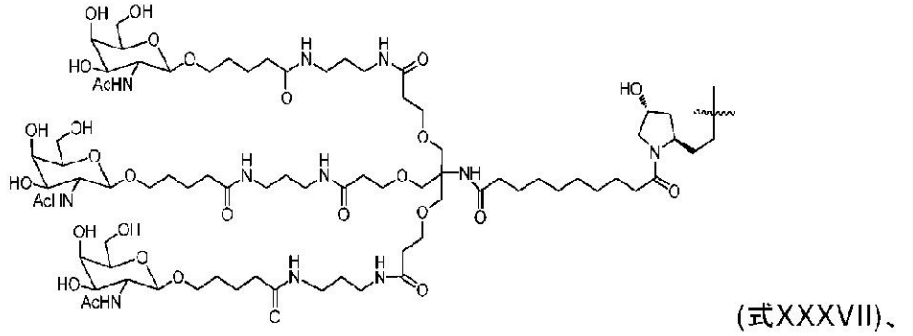
結基を含む。ペプチドベースの切断可能な連結基は、細胞中のペプチダーゼおよびプロテアーゼなどの酵素によって切断される。ペプチドベースの切断可能な連結基は、アミノ酸の間で形成され、オリゴペプチド（例えば、ジペプチド、トリペプチドなど）およびポリペプチドをもたらすペプチド結合である。ペプチドベースの切断可能な基は、アミド基（－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－）を含まない。アミド基は、任意のアルキレン、アルケニレンまたはアルキネレンの間で形成され得る。ペプチド結合は、アミノ酸の間で形成され、ペプチドおよびタンパク質をもたらすアミド結合の特別なタイプである。ペプチドベースの切断基は、一般に、アミノ酸の間で形成され、ペプチドおよびタンパク質をもたらす、ペプチド結合（すなわち、アミド結合）に限定され、アミド官能基全体を含まない。ペプチドベースの切断可能な連結基は、一般式－ＮＨＣＨＲＡＣ（Ｏ）ＮＨＣＨＲＢＣ（Ｏ）－、（式中、ＲＡおよびＲＢは、２つの隣接するアミノ酸のＲ基である）を有する。これらの候補は、上記のものと類似の方法を使用して評価できる。

【０５０８】

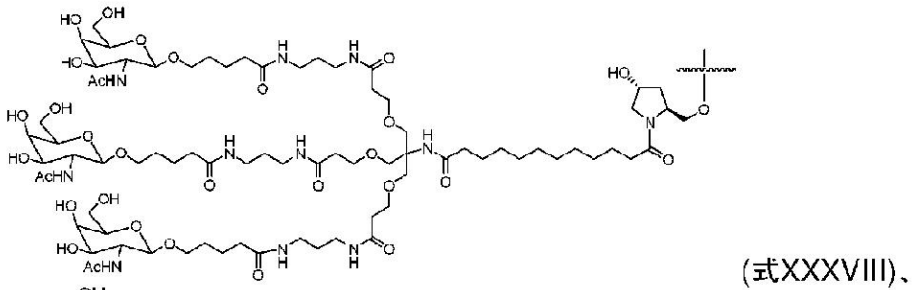
一部の実施形態において、本発明のｉＲＮＡは、リンカーを介して炭水化物にコンジュゲートされる。本発明の組成物および方法のリンカーを有するｉＲＮＡ炭水化物コンジュゲートの非限定的な例として、それだけには限らないが、

【０５０９】

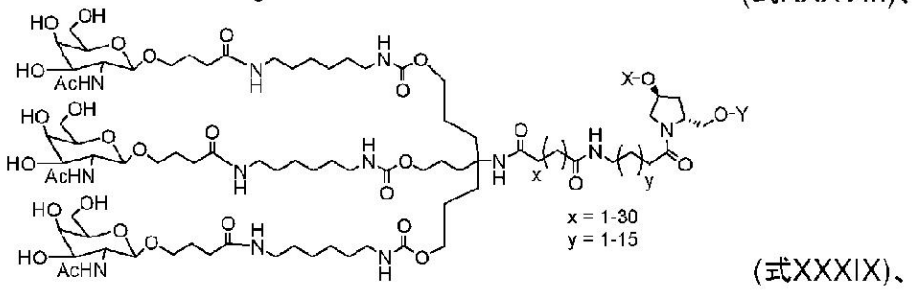
【化２７】



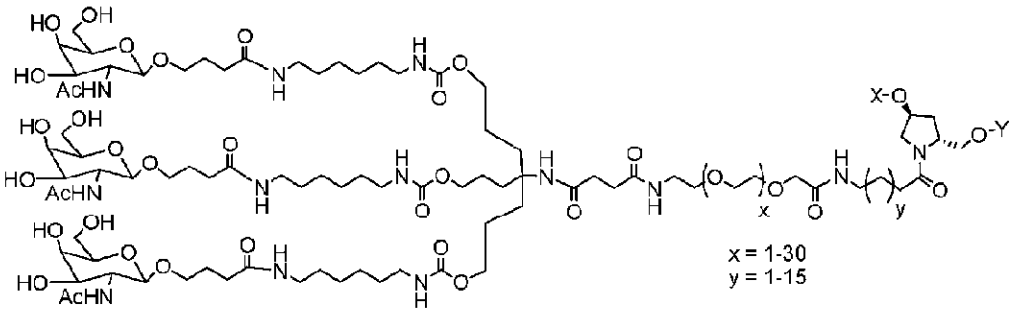
(式XXXVII)、



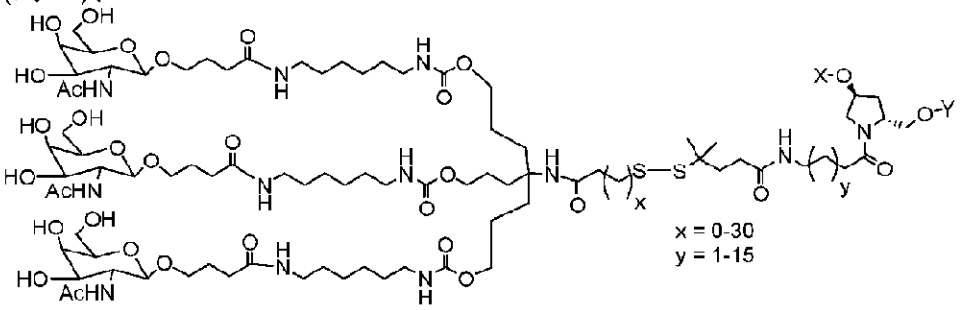
(式XXXVIII)、



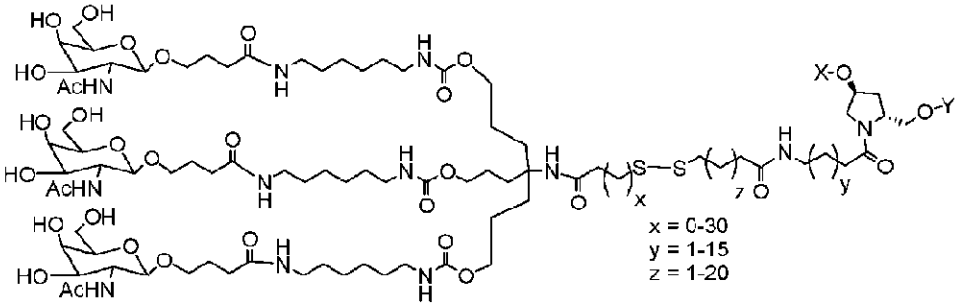
(式XXXIX)、



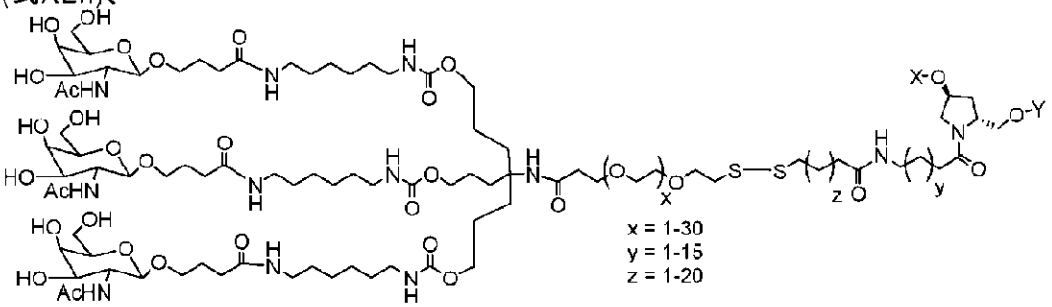
(式XL)、



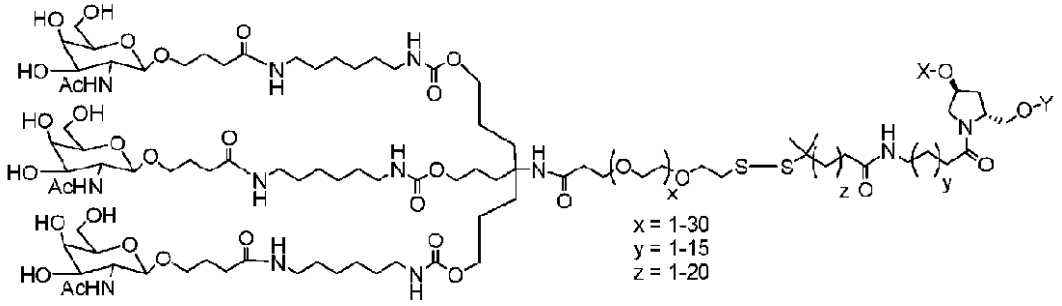
(式XLI)、



(式XLII)、



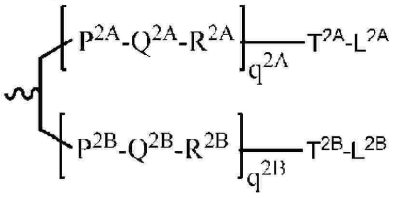
(式XLIII)、および



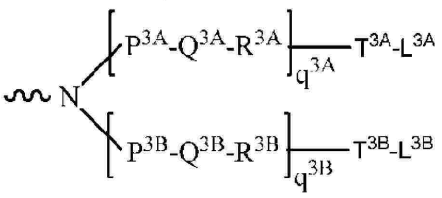
(式XLIV)

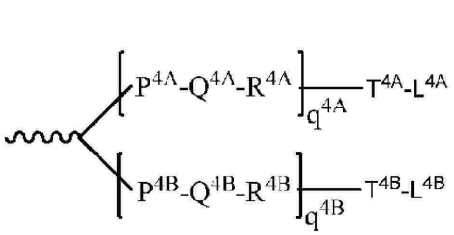
［ＸまたはＹのうちの一方が、オリゴヌクレオチドである場合は、もう一方は、水素である］
が挙げられる。
【０５１０】
本発明の組成物および方法のある特定の実施形態において、リガンドは、二価または三価分岐リンカーを介して付着された１つまたは複数の「ＧａｌＮＡｃ」（Ｎ－アセチルガラクトサミン）誘導体である。
【０５１１】
ある特定の実施形態において、本発明のｄｓＲＮＡは、式（ＸＬＶ）～（ＸＬＶＩ）のいずれかで示される構造の群から選択される二価または三価分岐リンカーにコンジュゲートされる：
【０５１２】
【化２８】

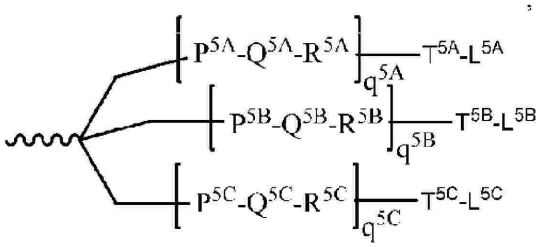
式XXXXV



式XLVI





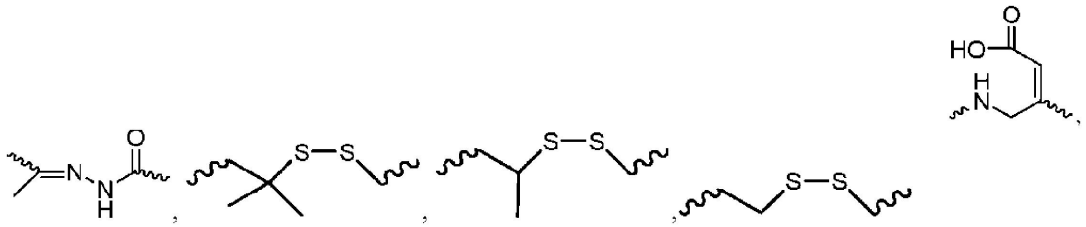


式XLVII

式XLVIII

［式中、
ｑ２Ａ、ｑ２Ｂ、ｑ３Ａ、ｑ３Ｂ、ｑ４Ａ、ｑ４Ｂ、ｑ５Ａ、ｑ５Ｂおよびｑ５Ｃは、各出現について独立に、０～２０を表し、反復単位は、同一である場合も、異なる場合もあり、
p^{2A}、P^{2B}、P^{3A}、P^{3B}、P^{4A}、P^{4B}、P^{5A}、P^{5B}、P^{5C}、T^{2A}、T^{2B}、T^{3A}、T^{3B}、T^{4A}、T^{4B}、T^{4A}、T^{5B}、T^{5C}は、各出現について各々独立に、存在しない、ＣＯ、ＮＨ、Ｏ、Ｓ、ＯＣ（Ｏ）、ＮＨＣ（Ｏ）、CH_2、CH_2NHまたはCH_2Oであり、
Q^{2A}、Q^{2B}、Q^{3A}、Q^{3B}、Q^{4A}、Q^{4B}、Q^{5A}、Q^{5B}、Q^{5C}は、各出現について独立に、存在しない、アルキレン、置換アルキレンであり、１つまたは複数のメチレンは、Ｏ、Ｓ、Ｓ（Ｏ）、SO_2、Ｎ（R^N）、Ｃ（Ｒ’）＝Ｃ（Ｒ’’）、Ｃ≡Ｃ、またはＣ（Ｏ）のうち１つまたは複数によって中断または終結され得、
R^{2A}、R^{2B}、R^{3A}、R^{3B}、R^{4A}、R^{4B}、R^{5A}、R^{5B}、R^{5C}は、各出現について各々独立に、存在しない、ＮＨ、Ｏ、Ｓ、CH_2、Ｃ（Ｏ）Ｏ、Ｃ（Ｏ）ＮＨ、ＮＨＣＨ（R^a）Ｃ（Ｏ）、－Ｃ（Ｏ）－ＣＨ（R^a）－ＮＨ－、ＣＯ、ＣＨ＝Ｎ－Ｏ、
【０５１３】

【化２９】

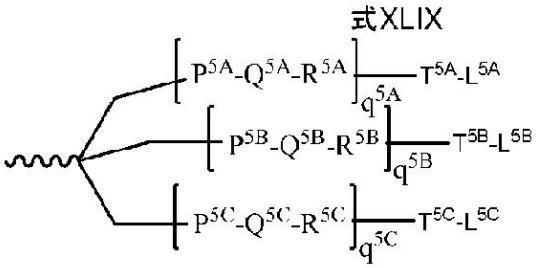


またはヘテロシクリルであり、

Ｌ^{2A}、Ｌ^{2B}、Ｌ^{3A}、Ｌ^{3B}、Ｌ^{4A}、Ｌ^{4B}、Ｌ^{5A}、Ｌ^{5B}およびＬ^{5C}は、リガンドを表し；すなわち、各出現について各々独立に、単糖（ＧａｌＮＡｃなど）、二糖、三糖、四糖、オリゴ糖、または多糖を表し、Ｒ^{a}は、Ｈまたはアミノ酸側鎖である］。三価コンジュゲート性ＧａｌＮＡｃ誘導体、標的遺伝子の発現を阻害するためのＲＮＡｉ剤と使用するのに特に有用であり、例えば、式（ＸＬＩＸ）のものである：

【０５１４】

【化３０】



［式中、Ｌ^{5A}、Ｌ^{5B}およびＬ^{5C}は、単糖、例えば、ＧａｌＮＡｃ誘導体を表す］。

【０５１５】

ＧａｌＮＡｃ誘導体をコンジュゲートするのに適した二価および三価分岐リンカー基の例として、それだけには限らないが、式ＩＩ、ＶＩＩ、ＸＩ、ＸおよびＸＩＩＩのような上記で列挙された構造が挙げられる。

【０５１６】

ＲＮＡコンジュゲートの調製を教示する代表的な米国特許として、それだけには限らないが、米国特許第４，８２８，９７９号、同４，９４８，８８２号、同５，２１８，１０５号、同５，５２５，４６５号、同５，５４１，３１３号、同５，５４５，７３０号、同５，５５２，５３８号、同５，５７８，７１７号、同５，５８０，７３１号、同５，５９１，５８４号、同５，１０９，１２４号、同５，１１８，８０２号、同５，１３８，０４５号、同５，４１４，０７７号、同５，４８６，６０３号、同５，５１２，４３９号、同５，５７８，７１８号、同５，６０８，０４６号、同４，５８７，０４４号、同４，６０５，７３５号、同４，６６７，０２５号、同４，７６２，７７９号、同４，７８９，７３７号、同４，８２４，９４１号、同４，８３５，２６３号、同４，８７６，３３５号、同４，９０４，５８２号、同４，９５８，０１３号、同５，０８２，８３０号、同５，１１２，９６３号、同５，２１４，１３６号、同５，０８２，８３０号、同５，１１２，９６３号、同５，２１４，１３６号、同５，２４５，０２２号、同５，２５４，４６９号、同５，２５８，５０６号、同５，２６２，５３６号、同５，２７２，２５０号、同５，２９２，８７３号、同５，３１７，０９８号、同５，３７１，２４１号、同５，３９１，７２３号、同５，４１６，２０３号、同５，４５１，４６３号、同５，５１０，４７５号、同５，５１２，６６７号、同５，５１４，７８５号、同５，５６５，５５２号、同５，５６７，８１０号、同５，５７４，１４２号、同５，５８５，４８１号、同５，５８７，３７１号、同５，５９５，７２６号、同５，５９７，６９６号、同５，５９９，９２３号、同

５，５９９，９２８号、同５，６８８，９４１号、同６，２９４，６６４号、同６，３２０，０１７号、同６，５７６，７５２号、同６，７８３，９３１号、同６，９００，２９７号、同７，０３７，６４６号および同８，１０６，０２２号が挙げられ、それらの各々の内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０５１７】

所与の化合物において全ての位置について均一に修飾される必要はなく、実際、前記修飾のうち２つ以上を単一化合物中に、またはさらにｉＲＮＡ内の単一ヌクレオシドに組み込むことができる。本発明はまた、キメラ化合物であるｉＲＮＡ化合物を含む。

【０５１８】

本発明との関連で「キメラ」ｉＲＮＡ化合物または「キメラ」とは、各々、少なくとも１つのモノマー単位、すなわち、ｄｓＲＮＡ化合物の場合にはヌクレオチドで構成されている、２つ以上の化学的に別個の領域を含有する、ｉＲＮＡ化合物、好ましくは、ｄｓＲＮＡ剤である。これらのｉＲＮＡは通常、ｉＲＮＡに、ヌクレアーゼ分解に対する耐性の増大、細胞取り込みの増大または標的核酸に対する結合親和性の増大を付与するようにＲＮＡが修飾される少なくとも１つの領域を含有する。ｉＲＮＡのさらなる領域は、ＲＮＡ：ＤＮＡまたはＲＮＡ：ＲＮＡハイブリッドを切断可能な酵素の基質として働くことができる。例として、ＲＮアーゼＨは、ＲＮＡ：ＤＮＡ二本鎖のＲＮＡ鎖を切断する細胞性エンドヌクレアーゼである。したがって、ＲＮアーゼＨの活性化は、ＲＮＡ標的の切断をもたらし、それによって、遺伝子発現のｉＲＮＡ阻害の効率を大きく増強する。結果的に、同一標的領域にハイブリダイズするホスホロチオエートデオキシｄｓＲＮＡと比較して、キメラｄｓＲＮＡが使用される場合により短いｉＲＮＡで比較できる結果を得ることができることが多い。ＲＮＡ標的の切断は、ゲル電気泳動、必要に応じて、当技術分野で公知の関連する核酸ハイブリダイゼーション技術によって日常的に検出できる。

【０５１９】

ある特定の例では、ｉＲＮＡのＲＮＡは、非リガンド基によって修飾できる。ｉＲＮＡの活性、細胞分布または細胞取り込みを増強するために、いくつかの非リガンド分子がｉＲＮＡにコンジュゲートされており、このようなコンジュゲーションを実施するための手順は、科学文献において利用可能である。このような非リガンド部分には、コレステロールなどの脂質部分［Kubo, T. et al., Biochem. Biophys. Res. Comm., 2007, 365(1):54-61、Letsinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86:6553］、コール酸（Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4:1053）、チオエーテル、例えば、ヘキシル－Ｓ－トリチルチオール（Manoharan et al., Ann. N.Y. Acad. Sci., 1992, 660:306、Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Let., 1993, 3:2765）、チオコレステロール（Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20:533）、脂肪鎖、例えば、ドデカンジオールもしくはウンデシル残基（Saison-Behmoaras et al., EMBO J., 1991, 10:111、Kabanov et al., FEBS Lett., 1990, 259:327; Svinarchuk et al., Biochimie, 1993, 75:49）、リン脂質、例えば、ジ－ヘキサデシル－ｒａｃ－グリセロールもしくはトリエチルアンモニウム１，２－ジ－Ｏ－ヘキサデシル－ｒａｃ－グリセロ－３－Ｈ－ホスホネート（Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36:3651、Shea et al., Nucl. Acids Res., 1990, 18:3777）、ポリアミンもしくはポリエチレングリコール鎖（Manoharan et al., Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14:969）またはアダマンタン酢酸（Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36:3651）、パルミチル部分（Mishra et al., Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264:229）またはオクタデシルアミンもしくはヘキシルアミノ－カルボニル－オキシコレステロール部分（Crooke et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277:923）が含まれていた。このようなＲＮＡコンジュゲートの調製を教示する代表的な米国特許は、上記で列挙されている。通常のコンジュゲーションプロトコールは、配列の１つまたは複数の位置にアミノリンカーを有するＲＮＡの合成を含む。次いで、適切なカップリングまたは活性化試薬を使用して、アミノ基が、コンジュゲートされている分子と反応する。コンジュゲーション反

応は、ＲＮＡがまだ固体支持体に結合している状態で、または溶液相でＲＮＡが切断された後に実施できる。ＨＰＬＣによるＲＮＡコンジュゲートの精製によって、通常、純粋なコンジュゲートが得られる。

【０５２０】

Ｖ．本開示のＲＮＡｉ剤のデリバリー

細胞、例えば、対象内の細胞、例えば、ヒト対象（例えば、それを必要とする対象、例えば、ＡＢＬＩＭ３関連障害、例えば、ＰＴＳＤまたは加齢性記憶喪失を有する対象）内の細胞への本開示のＲＮＡｉ剤のデリバリーは、いくつかの異なる方法において達成することができる。例えば、デリバリーは、細胞をインビトロまたはインビボのどちらかにおいて本開示のＲＮＡｉ剤と接触させることによって実施され得る。インビボデリバリーは、ＲＮＡｉ剤、例えば、ｄｓＲＮＡを含む組成物を対象に投与することによって直接的に実施してもよい。あるいは、インビボデリバリーは、ＲＮＡｉ剤をコードしその発現を誘導する１つまたは複数のベクターを投与することによって間接的に実施してもよい。これらの代替策は、下記においてさらに説明される。

【０５２１】

概して、核酸分子をデリバリーする任意の方法（インビトロまたはインビボ）は、本開示のＲＮＡｉ剤の使用に適合させることができる［例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Akhtar S. and Julian RL., (1992) Trends Cell. Biol. 2(5):139-144およびＷＯ９４／０２５９５を参照されたい］。インビボデリバリーの場合、ＲＮＡｉ剤をデリバリーするために考慮する要因としては、例えば、デリバリーされた薬剤の生物学的安定性、非特異的効果の防止、および標的組織におけるデリバリーされた薬剤の蓄積が挙げられる。ＲＮＡｉ剤の非特異的効果は、局所投与、例えば、組織への直接注入もしくは移植または調製物の局所投与によって最小限に抑えることができる。処置部位への局所投与は、薬剤の局所濃度を最大化し、薬剤によって害され得るかまたは薬剤を分解することができる全身組織への薬剤の曝露を制限し、投与されるＲＮＡｉ剤のより少ない合計用量を可能にする。いくつかの研究は、ＲＮＡｉ剤が局所的に投与された場合での遺伝子産物のノックダウンの成功を示している。例えば、カニクイザルでの硝子体注入によるＶＥＧＦ　ｄｓＲＮＡの眼内デリバリー［Tolentino, MJ. et al., (2004) Retina 24:132-138］およびマウスでの網膜下注入［Reich, SJ. et al. (2003) Mol. Vis. 9:210-216］は、両方とも、加齢黄斑変性症の実験モデルにおいて、新生血管形成を予防することが示された。加えて、マウスへのｄｓＲＮＡの直接的腫瘍内注入は、腫瘍体積を減少させ［Pille, J. et al. (2005) Mol. Ther. 11:267-274］、ならびに腫瘍を有するマウスの生存を長引かせることができる［Kim, WJ. et al., (2006) Mol. Ther. 14:343-350; Li, S. et al., (2007) Mol. Ther. 15:515-523］。ＲＮＡ干渉は、直接注入によるＣＮＳへの［Dorn, G. et al., (2004) Nucleic Acids 32:e49; Tan, PH. et al. (2005) Gene Ther. 12:59-66; Makimura, H. et al. (2002) BMC Neurosci. 3:18; Shishkina, GT., et al. (2004) Neuroscience 129:521-528; Thakker, ER., et al. (2004) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101:17270-17275; Akaneya,Y., et al. (2005) J. Neurophysiol. 93 :594-602］、および鼻腔内投与による肺への［Howard, KA. et al., (2006) Mol. Ther. 14:476-484; Zhang, X. et al., (2004) J. Biol. Chem. 279:10677-10684; Bitko, V. et al., (2005) Nat. Med. 11:50-55］、局所デリバリーによる成功も示している。疾患の処置のためにＲＮＡｉ剤を全身投与する場合、ＲＮＡを修飾することができ、またはその代わりに、薬物デリバリーシステムを使用してデリバリーすることができ；両方の方法は、インビボでのエンドヌクレアーゼおよびエクソヌクレアーゼによるｄｓＲＮＡの急速な分解を防ぐように機能する。ＲＮＡまたは医薬担体の修飾も、標的組織へのＲＮＡｉ剤の標的化を可能にすることができ、望ましくないオフターゲット効果を避けることができる（例えば、理論に束縛されることを望むわけではないが、本明細書において説明されるＧＮＡの使用は、ｄｓＲＮＡのシード領域を不安定化することが特定されており、そのようなオフターゲット効果は、そのようなシード領域の不安定化によって著し

く弱められるため、結果として、オフターゲット効果と比較したときのオンターゲットの有効性に対する、そのようなｄｓＲＮＡの優先性を高める）。ＲＮＡｉ剤は、細胞取り込みを増強し、分解を防ぐように、コレステロールなどの親油性基への化学的コンジュゲーションによって修飾することができる。例えば、親油性コレステロール部分にコンジュゲートさせたＡｐｏＢへと誘導されたＲＮＡｉ剤を、マウスに全身的に注入したところ、結果として、肝臓および空腸の両方においてａｐｏＢ　ｍＲＮＡのノックダウンを生じた［Soutschek, J. et al., (2004) Nature 432:173-178］。アプタマーへのＲＮＡｉ剤のコンジュゲーションは、前立腺がんのマウスモデルにおいて腫瘍の成長を阻害し、腫瘍縮小を媒介することが分かっている［McNamara, JO. et al., (2006) Nat. Biotechnol. 24:1005-1015］。代替の実施形態において、ＲＮＡｉ剤は、薬物デリバリーシステム、例えば、ナノ粒子、デンドリマー、ポリマー、リポソーム、またはカチオン性デリバリーシステムなどを使用してデリバリーすることができる。正に帯電したカチオン性デリバリーシステムは、分子ＲＮＡｉ剤（負に帯電した）の結合を促進し、負に帯電した細胞膜での相互作用も高め、それにより、細胞によるＲＮＡｉ剤の効率的な取り込みを可能にする。カチオン性脂質、デンドリマー、またはポリマーは、ＲＮＡｉ剤に結合することができるか、またはＲＮＡｉ剤を封入するベシクルまたはミセルを形成するように誘導することができる［例えば、Kim SH. et al., (2008) Journal of Controlled Release 129(2):107-116を参照されたい］。ベシクルまたはミセルの形成はさらに、全身投与したときのＲＮＡｉ剤の分解を防ぐ。カチオン性ＲＮＡｉ剤複合体を作製および投与する方法は、十分に当業者の能力の範囲内である［例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Sorensen, DR., et al. (2003) J. Mol. Biol 327:761-766; Verma, UN. et al., (2003) Clin. Cancer Res. 9:1291-1300; Arnold, AS et al. (2007) J. Hypertens. 25:197-205を参照されたい］。ＲＮＡｉ剤の全身デリバリーにとって有用な薬物デリバリーシステムのいくつかの非限定的な例としては、ＤＯＴＡＰ［Sorensen, DR., et al (2003), supra; Verma, UN. et al., (2003), supra］、オリゴフェクタミン（Ｏｌｉｇｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ）、「固体核酸脂質粒子」［Zimmermann, TS. et al., (2006) Nature 441:111-114］、カルジオリピン［Chien, PY. et al., (2005) Cancer Gene Ther. 12:321-328; Pal, A. et al., (2005) Int J. Oncol. 26:1087-1091］、ポリエチレンミン［Bonnet ME. et al., (2008) Pharm. Res. Aug 16 Epub ahead of print; Aigner, A. (2006) J. Biomed. Biotechnol. 71659］、Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＲＧＤ）ペプチド［Liu, S. (2006) Mol. Pharm. 3:472-487］、およびポリアミドアミン［Tomalia, DA. et al., (2007) Biochem. Soc. Trans. 35:61-67; Yoo, H. et al., (1999) Pharm. Res. 16:1799-1804］が挙げられる。一部の実施形態において、ＲＮＡｉ剤は、全身投与のためにシクロデキストリンと複合体を形成する。投与の方法およびＲＮＡｉ剤とシクロデキストリンとによる医薬組成物は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第７，４２７，６０５号に見出すことができる。

【０５２２】

本開示のある特定の態様は、細胞においてＡＢＬＩＭ３標的遺伝子の発現を減少させる方法であって、細胞を本開示の二本鎖ＲＮＡｉ剤と接触させることを含む方法に関する。一実施形態において、細胞は、ＣＮＳ細胞、例えば、脳細胞である。他の実施形態において、細胞は、歯状回顆粒細胞、ニューロン、星状細胞、またはオリゴデンドロサイトである。

【０５２３】

本開示の別の態様は、対象におけるＡＢＬＩＭ３標的遺伝子の発現を低減させる方法であって、本開示の二本鎖ＲＮＡｉ剤を対象に投与することを含む方法に関する。

【０５２４】

本開示の別の態様は、ＰＴＳＤまたは加齢性記憶喪失を有する対象を処置する方法であって、治療有効量の本開示の二本鎖ＡＢＬＩＭ３標的化ＲＮＡｉ剤を対象に投与すること、それによって対象を処置することを含む方法に関する。

【０５２５】
本開示の別の態様は、ＰＴＳＤまたは加齢性記憶喪失を有する対象における兆候または症状を防止する方法であって、治療有効量の本開示の二本鎖ＡＢＬＩＭ３標的化ＲＮＡｉ剤を対象に投与すること、それによってＡＢＬＩＭ３発現の低減が有益であろう対象における兆候または症状を防止することを含む方法に関する。例示的なＰＴＳＤの兆候または症状としては、不安症、恐怖、不穏、うつ病、苦痛、敵意、鮮明なフラッシュバック、不眠症、悪夢、社会的隔離、ならびに身体的感覚、例えば、疼痛、発汗、悪心、および震えが挙げられる。例示的な加齢性記憶喪失の兆候および症状としては、記憶喪失、頻繁に物をなくしたり置き間違えたりすること、頻繁に会話、約束、および出来事を忘れること、名前を覚えるのが難しいこと、会話についていくのが難しいこと、ならびに所望の言葉を思いつくのが難しいことが挙げられる。
【０５２６】
本開示の別の態様は、対象がＰＴＳＤまたは加齢性記憶喪失を有することを防止する方法であって、治療有効量の本開示の二本鎖ＡＢＬＩＭ３標的化ＲＮＡｉ剤を対象に投与すること、それによって対象がＰＴＳＤまたは加齢性記憶喪失を有することを防止する方法に関する。
【０５２７】
一実施形態において、二本鎖ＲＮＡｉ剤は、髄腔内投与される。二本鎖ＲＮＡｉ剤の髄腔内投与によって、方法は、脳（例えば、海馬および大脳）でのＡＢＬＩＭ３標的遺伝子の発現を低減させることができる。
【０５２８】
解説の容易さのために、このセクションにおける製剤、組成物、および方法は、主に、修飾されたｓｉＲＮＡ化合物に関して説明される。しかしながら、これらの製剤、組成物、および方法は、他のｓｉＲＮＡ化合物、例えば、未修飾ｓｉＲＮＡ化合物によって実践することができ、そのような実践は、本開示内であることは理解され得る。ＲＮＡｉ剤を含む組成物は、様々な経路によって対象にデリバリーすることができる。例示的経路としては、髄腔内、静脈内、局所、経直腸、経肛門、経膣、経鼻、経肺、および経眼が挙げられる。
【０５２９】
本開示のＲＮＡｉ剤は、投与にとって好適な医薬組成物に組み込むことができる。そのような組成物は、通常、１種または複数種のＲＮＡｉ剤と薬学的に許容される担体とを含む。本明細書において使用される場合、語句「薬学的に許容される担体」は、医薬投与に適合性の、ありとあらゆる溶媒、分散媒、コーティング剤、抗真菌剤および防かび剤、等張剤および吸収遅延剤、ならびに同様のものを含むことが意図される。薬学的に活性な物質のためのそのような媒質および薬剤の使用は、当技術分野において周知である。任意の従来的な媒質または薬剤が活性成分と不適合性である場合を除き、組成物におけるそれらの使用は想到される。補足の有効成分もまた組成物に組み込まれ得る。
【０５３０】
本開示の医薬組成物は、局所処置または全身処置のどちらが所望されるか、ならびに処置されるエリアに応じて、いくつかの方法において投与され得る。投与は、局所（例えば、点眼、経膣、経直腸、鼻腔内、経皮など）、髄腔内、経口、または非経口投与であり得る。非経口投与は、点滴、皮下、腹腔内、もしくは筋肉注射、または髄腔内または脳室内投与を含む。
【０５３１】
投与の経路および部位は、標的化を増強するように選択され得る。例えば、神経または脊柱組織を標的化するためには、髄腔内注射が論理的な選択であろう。肺細胞は、エアゾール形態でのＲＮＡｉ剤の投与によって標的化され得る。血管内皮細胞は、ＲＮＡｉ剤によるバルーンカテーテルのコーティングおよびＲＮＡの機械的導入によって標的化され得る。
【０５３２】

局所投与用製剤は、経皮パッチ、軟膏剤、ローション剤、クリーム剤、ゲル剤、滴剤、坐剤、噴霧剤、溶液剤、および散剤を含み得る。従来の医薬用担体、水性、粉末、または油状基剤、増粘剤なども必要であり得、または望ましくあり得る。被覆したコンドーム、手袋なども有用であり得る。

【０５３３】

経口投与用組成物は、散剤または顆粒剤、水中における懸濁剤または溶液剤、シロップ剤、エキシル剤または非水性媒体、タブレット剤、カプセル剤、ドロップ剤、またはトローチ剤を含む。錠剤の場合、使用できる担体としては、ラクトース、クエン酸ナトリウム、およびリン酸の塩が挙げられる。様々な崩壊剤、例えば、デンプンなど、および潤滑剤、例えば、ステアリン酸マグネシウム、ラウリル硫酸ナトリウム、およびタルクなどが、錠剤において一般的に使用される。カプセル形態での経口投与の場合、有用な希釈剤は、ラクトースおよび高分子量ポリエチレングリコールである。経口投与に水性懸濁液が必要な場合、核酸組成物は、乳化剤および懸濁剤と組み合わせることができる。所望の場合、ある特定の甘味剤または風味剤を加えることができる。

【０５３４】

髄腔内または脳室内投与用の組成物は、緩衝液、希釈剤、および他の好適な添加剤も含有し得る無菌水溶液を含み得る。

【０５３５】

非経口投与用の製剤は、緩衝液、希釈剤、および他の好適な添加剤も含有し得る無菌水溶液を含み得る。脳室内注射は、例えばリザーバーに取り付けられた、脳室内カテーテルによって促進され得る。静脈内使用の場合、溶質の総濃度は、調製物を等張にするように制御され得る。

【０５３６】

一実施形態において、ｓｉＲＮＡ化合物、例えば、二本鎖ｓｉＲＮＡ化合物、またはｓｉＲＮＡ化合物、組成物の投与は、非経口、例えば、静脈内（例えば、ボーラスとして、または拡散性注入として）、皮内、腹腔内、筋肉内、髄腔内、心室内、脳内、皮下、経粘膜、頬側、舌下、内視鏡下、経直腸、経口、経膣、局所、経肺、鼻腔内、経尿道、または経眼である。投与は、本人によって、または他の人、例えば、医療提供者などによって提供され得る。医薬品は、測定された用量において、または秤量された用量をデリバリーするディスペンサーにおいて提供することができる。選択されたデリバリーのモードは、下記においてより詳細に説明される。

【０５３７】

Ａ．髄腔内投与

一実施形態において、二本鎖ＲＮＡｉ剤は、髄腔内注入（すなわち、脳および脊髄組織を浸す髄液への注入）によってデリバリーされる。髄液へのＲＮＡｉ剤の髄腔内注入は、ボーラス注入として、または、皮下に注入することができるミニポンプによって、実施することができ、それにより、髄液中へのｓｉＲＮＡの規則正しい一定のデリバリーを提供することができる。髄液が産生される脈絡叢からの髄液の循環は、脊髄および後根神経節の周りを下り、その後、小脳を通過して、クモ膜顆粒へと皮質を越え、そこで、体液はＣＮＳを出ることができ、注入された化合物のサイズ、安定性、および溶解性に応じて、髄腔内によりデリバリーされる分子は、ＣＮＳ全体を通して標的を攻撃することができる。

【０５３８】

一部の実施形態において、髄腔内投与は、ポンプを介して行われる。ポンプは、外科手術によって移植された浸透圧ポンプであり得る。一実施形態において、浸透圧ポンプは、髄腔内投与を容易にするために、脊柱管の髄腔内に移植される。

【０５３９】

一部の実施形態において、髄腔内投与は、ある量の医薬品を収容するリザーバーおよびリザーバーに収容された医薬品の一部をデリバリーするように構成されたポンプを含む、製薬品の髄腔内デリバリーシステムを介して行われる。この髄腔内デリバリーシステムについてのさらなる詳細は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、ＷＯ２０１５

／１１６６５８に見出され得る。
【０５４０】
髄腔内注入されたＲＮＡｉ剤の量は、一方の標的遺伝子から別の標的遺伝子へと変わり得、ならびに適用されるべき適切な量は、各標的遺伝子に対して個別に決定しなければならない場合がある。典型的には、この量は、１０μｇから２ｍｇ、好ましくは５０μｇから１５００μｇ、より好ましくは１００μｇから１０００μｇの範囲である。
【０５４１】
Ｂ．本開示のベクターコードＲＮＡｉ剤
ＡＢＬＩＭ３遺伝子を標的化するＲＮＡｉ剤は、ＤＮＡまたはＲＮＡベクターに挿入された転写物ユニットから発現され得る［例えば、Couture, A, et al., TIG. (1996), 12:5-10；ＷＯ００／２２１１３、ＷＯ００／２２１１４、およびＵＳ６，０５４，２９９を参照されたい］。発現は、好ましくは、使用される特定のコンストラクトおよび標的組織または細胞タイプに応じて継続される（数か月またはそれ以上）。これらの導入遺伝子は、直鎖状コンストラクト、環状プラスミド、またはウイルスベクターとして導入することができ、それらは、統合ベクターまたは非統合ベクターであり得る。導入遺伝子は、染色体外プラスミドとして継代されることを可能にするように構築することもできる［Gassmann, et al., (1995) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:1292］。
【０５４２】
ＲＮＡｉ剤の個々の鎖は、発現ベクター上のプロモーターから転写させることができる。２つの別々の鎖が、例えば、ｄｓＲＮＡを産生するように発現される場合、２つの別々の発現ベクターを、標的細胞中に共導入することができる（例えば、トランスフェクションまたは感染によって）。あるいは、ｄｓＲＮＡのそれぞれ個別の鎖を、両方が同じ発現プラスミド上に位置されたプロモーターによって転写させることができる。一実施形態において、ｄｓＲＮＡは、ｄｓＲＮＡがステム－アンド－ループ構造を有するようにリンカーポリヌクレオチド配列によって連結された逆方向反復ポリヌクレオチドとして発現される。
【０５４３】
ＲＮＡｉ剤発現ベクターは、一般的に、ＤＮＡプラスミドまたはウイルスベクターである。真核細胞に対して適合性の発現ベクター、好ましくは脊椎動物細胞に対して適合性の発現ベクターを使用することにより、本明細書において説明されるＲＮＡｉ剤の発現のための組換えコンストラクトを生成することができる。ＲＮＡｉ剤発現ベクターのデリバリーは、例えば、静脈内または筋肉内投与によって、患者から外植された標的細胞への投与とその後の患者への再導入によって、または所望の標的細胞への導入を可能にする任意の他の手段によって、全身性であり得る。
【０５４４】
本明細書において説明される方法および組成物と共に用いることができるウイルスベクターシステムとしては、これらに限定されるわけではないが、（ａ）アデノウィルスベクター；（ｂ）レトロウイルスベクター、例えば、これらに限定されるわけではないが、レンチウイルスベクター、モロニーマウス白血病ウイルスなど；（ｃ）アデノ随伴ウイルスベクター；（ｄ）単純ヘルペスウイルスベクター；（ｅ）ＳＶ４０ベクター；（ｆ）ポリオーマウイルスベクター；（ｇ）パピローマウイルスベクター；（ｈ）ピコルナウイルスベクター；（ｉ）水泡ウイルスベクター、例えば、オルソポックス、例えば、種痘疹ウイルスベクターなど、または鳥ポックス（ａｖｉｐｏｘ）、例えば、カナリア痘または家禽ジフテリアなど；ならびに（ｊ）ヘルパー依存性またはガットレス（ｇｕｔｌｅｓｓ）アデノウィルスが挙げられる。複製欠損ウイルスも有利であり得る。異なるベクターは、細胞のゲノムの中に組み込まれるかまたは組み込まれないであろう。コンストラクトは、所望の場合、トランスフェクションのためのウイルス配列を含ませることができる。あるいは、コンストラクトは、エピソーム複製が可能なベクター、例えば、ＥＰＶおよびＥＢＶベクターなどに組み込むことができる。ＲＮＡｉ剤の組換え発現のためのコンストラクトは、概して、標的細胞におけるＲＮＡｉ剤の発現を確実にするために、調節要素、例えば

、プロモーター、エンハンサー、などを必要とするであろう。ベクターおよびコンストラクトを考慮する他の態様は、当技術分野で公知である。

【０５４５】

ＶＩ．本発明の医薬組成物

本開示は、本開示のＲＮＡｉ剤を含む医薬組成物および製剤も含む。一実施形態において、本明細書において説明されるＲＮＡｉ剤と、薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物が本明細書において提供される。ＲＮＡｉ剤を含む医薬組成物は、ＡＢＬＩＭ３の発現または活性の低減または阻害によって処置可能な疾患または状態、例えば、ＡＢＬＩＭ３関連疾患、例えば、ＰＴＳＤまたは加齢性記憶喪失の処置に有用である。

【０５４６】

一部の実施形態において、本発明の医薬組成物は、無菌である。別の実施形態において、本発明の医薬組成物は、パイロジェンフリーである。

【０５４７】

そのような医薬組成物は、デリバリーのモードに基づいて製剤化される。一例は、非経口デリバリー、例えば、静脈内（ＩＶ）、筋肉内（ＩＭ）、または皮下（ｓｕｂＱ）デリバリーによる全身投与のために製剤化される組成物である。別の例は、例えば、注入の髄腔内または硝子体内経路、適宜、脳（例えば、線状体）内への注入、例えば、連続ポンプ注入などによる、ＣＮＳ内への直接デリバリーのために製剤化された組成物である。

【０５４８】

本開示の医薬組成物は、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現を阻害するのに十分な投薬量において投与され得る。概して、本開示のＲＮＡｉ剤の好適な用量は、１日あたりレシピエントの体重１キログラムあたり約０．００１ミリグラムから約２００．０ミリグラムの範囲、概して、１日あたり体重１キログラムあたり約１ｍｇから５０ｍｇの範囲であろう。

【０５４９】

反復投薬計画は、定期的な、例えば、月１回から６か月毎に１回などのＲＮＡｉ剤の治療量の投与を含み得る。ある特定の実施形態において、ＲＮＡｉ剤は、四半期に約１回（すなわち、３か月毎に約１回）から１年に約２回、投与される。

【０５５０】

初期処置計画（例えば、初回負荷量）の後、処置は、低頻度において投与することができる。

【０５５１】

他の実施形態において、医薬組成物の単回投与は、継続することができ、それにより、その後の用量は、１か月以下、２か月以下、３か月以下、もしくは４か月以下、またはそれ以上の間隔において投与される。本開示の一部の実施形態において、本開示の医薬組成物の単回投与は、月１回投与される。本開示の他の実施形態において、本開示の医薬組成物の単回投与は、四半期に１回から年に２回において投与される。

【０５５２】

当業者は、ある特定の要因、例えば、これらに限定されるわけではないが、疾患または障害の重症度、以前の処置、対象の健康全般または年齢、および他の存在する疾患など、は、対象を効果的に処置するために必要な投薬量および投薬のタイミングに影響を及ぼし得ることを理解するだろう。その上、治療有効量の組成物による対象の処置は、単一の処置または一連の処置を含み得る。

【０５５３】

遺伝学における進歩は、ＰＴＳＤまたは加齢性記憶喪失を含めた、ＡＢＬＩＭ３の発現の低減が有益であろう種々のヒト疾患の研究のために多くの齧歯類モデルを生み出した。そのようなモデルは、ＲＮＡｉ剤のインビボ試験のために、ならびに治療有効用量を決定するために使用することができる。好適な齧歯類モデルは、当技術分野で公知であり、例えば、Borhgans and Homberg (2015) World J. Psychiatry 5(4):387-96に記載されるものなどが挙げられる。本開示の医薬組成物は、局所処置または全身処置のどちらが所望されるか、および処置されるエリアに応じて、いくつかの方法において投与する

ことができる。投与は、局所（例えば、経皮貼布による）、経肺、（例えば、ネブライザーなどによる散剤またはエアゾール剤の吸入または吹送による）；気管内、鼻腔内、表皮および経皮、経口または非経口であり得る。非経口投与は、静脈内、動脈内、皮下、腹腔内、もしくは筋肉内注射もしくは注入；皮下（例えば、移植されたデバイスによる）、または脳内（例えば、実質内、髄腔内、または心室内投与による）を含む。

【０５５４】

ＲＮＡｉ剤は、特定の組織、例えば、ＣＮＳ（例えば、脳のニューロン、膠細胞、または維管束組織）などを標的化する方式においてデリバリーすることができる。

【０５５５】

局所投与用の医薬組成物および製剤は、経皮パッチ、軟膏剤、ローション剤、クリーム剤、ゲル剤、滴剤、坐剤、噴霧剤、液剤、および散剤を含み得る。従来の、医薬担体、水性、粉末状、または油性基剤、増粘剤などは、必要であり得るか、または望ましくあり得る。被覆されたコンドーム、手袋なども有用であり得る。好適な局所用製剤としては、本開示において特徴とされるＲＮＡｉ剤が、局所デリバリー剤、例えば、脂質、リポソーム、脂肪酸、脂肪酸エステル、ステロイド、キレート化剤、および界面活性物質との混合物であるような製剤が挙げられる。好適な脂質およびリポソームとしては、中性（例えば、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミンＤＯＰＥ、ジミリストイルホスファチジルコリンＤＭＰＣ、ジステアロイルホスファチジルコリン）、陰性（例えば、ジミリストイルホスファチジルグリセロールＤＭＰＧ）、およびカチオン性（例えば、ジオレオイルテトラメチルアミノプロピルＤＯＴＡＰおよびジオレオイルホスファチジルエタノールアミンＤＯＴＭＡ）が挙げられる。本開示において特徴とされるＲＮＡｉ剤は、リポソーム内においてカプセル化することができ、またはリポソーム、特にカチオン性リポソームに対して複合体を形成することができる。あるいは、ＲＮＡｉ剤は、脂質、特にカチオン性脂質に対して複合体化することができる。好適な脂肪酸およびエステルとしては、これらに限定されるわけではないが、アラキドン酸、オレイン酸、エイコサン酸、ラウリン酸、カプリル酸、カプリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、リノール酸、リノレン酸、ジカプロエート、トリカプロエート、モノオレイン、ジラウリン、グリセリル１－モノカプロエート、１－ドデシルアザシクロヘプタン－２－オン、アシルカルニチン、アシルコリン、またはＣ１～２０アルキルエステル（例えば、イソプロピルミリステートＩＰＭ）、モノグリセライド、ディグリセライド、またはそれらの薬学的に許容される塩が挙げられる。局所用製剤は、参照により本明細書に組み込まれる、ＵＳ６，７４７，０１４において詳細に説明されている。

【０５５６】

Ａ．膜分子アセンブリを含むＲＮＡｉ剤製剤

本開示の組成物および方法における使用のためのＲＮＡｉ剤は、膜分子アセンブリ、例えば、リポソームまたはミセルでのデリバリー用に製剤化することができる。本明細書において使用される場合、用語「リポソーム」は、少なくとも１つの二層、例えば、１つの二層または複数の二層において整列された両親媒性脂質で構成されたベシクルを意味する。リポソームは、親油性材料から形成された膜と水性内部とを有する単層および多層ラメラベシクルを含む。水性部分は、ＲＮＡｉ剤組成物を含有する。親油性材料は、水性内部を、典型的にはＲＮＡｉ剤組成物を含まない（いくつかの例では、含む場合もある）水性外部から隔離する。リポソームは、作用部位への活性成分の移送およびデリバリーにとって有用である。リポソーム膜は、生体膜と構造的に似ているため、リポソームが組織に適用される場合、リポソーム二層は、細胞膜の二層と融合する。リポソームと細胞の併合が進行するため、ＲＮＡｉ剤を含む内部水性内容物は、細胞内へとデリバリーされ、そこで、ＲＮＡｉ剤は、標的ＲＮＡに特異的に結合することができ、ＲＮＡｉを媒介することができる。場合によって、リポソームはまた、例えば、ＲＮＡｉ剤を特定の細胞タイプに誘導するために、特異的に標的化される。

【０５５７】

ＲＮＡｉ剤を含有するリポソームは、様々な方法によって調製することができる。一例

において、リポソームの脂質成分が界面活性剤に溶解され、それにより、脂質成分によってミセルが形成される。例えば、脂質成分は、両親媒性カチオン性脂質または脂質コンジュゲートであり得る。界面活性剤は、高い臨界ミセル濃度を有することができ、非イオン性であり得る。例示的界面活性剤としては、コレート、ＣＨＡＰＳ、オクチルグルコシド、デオキシコレート、およびラウロイルサルコシンが挙げられる。次いで、ＲＮＡｉ剤が、脂質成分を含むミセルに加えられる。脂質上のカチオン性基は、ＲＮＡｉ剤と相互作用し、ＲＮＡｉ剤の周りに凝縮してリポソームを形成する。凝縮後、界面活性剤は、ＲＮＡｉ剤のリポソーム調製物を得るために、例えば、透析などによって除去される。

【０５５８】

必要であれば、凝集反応の際に、例えば、制御された添加によって、凝集を補助する担体化合物を加えることもできる。例えば、担体化合物は、核酸以外のポリマーであり得る（例えば、スペルミン、またはスペルミジン）。凝縮を支持するために、ｐＨも調整することができる。

【０５５９】

デリバリービヒクルの構造要素としてポリヌクレオチド／カチオン性脂質複合体を組み込む、安定なポリヌクレオチドデリバリービヒクルを生成する方法は、例えば、ＷＯ９６／３７１９４においてより詳細に説明されており、その内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。リポソームの形成は、Felgner, P. L. et al., (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 8:7413-7417；米国特許第４，８９７，３５５号；国特許第５，１７１，６７８号；Bangham et al., (1965) M. Mol. Biol. 23:238; Olson et al., (1979) Biochim. Biophys. Acta 557:9; Szoka et al., (1978) Proc. Natl. Acad. Sci. 75: 4194; Mayhew et al., (1984) Biochim. Biophys. Acta 775:169; Kim et al., (1983) Biochim. Biophys. Acta 728:339; and Fukunaga et al., (1984) Endocrinol. 115:757において説明される例示的方法の１つまたは複数の態様も含むことができる。デリバリービヒクルとしての使用のために適切なサイズの脂質集合体を調製するために一般的に使用される方法としては、超音波処理ならびに凍結融解および押出加工が挙げられる［例えば、Mayer et al., (1986) Biochim. Biophys. Acta 858:161を参照されたい］。一貫して小さくて（５０ｎｍから２００ｎｍ）比較的均一な集合体が所望される場合、顕微溶液化を使用することができる［Mayhew et al., (1984) Biochim. Biophys. Acta 775:169］。これらの方法は、ＲＮＡｉ剤調製物をリポソーム内にパッキングすることに容易に適合される。

【０５６０】

リポソームは、２つの広いクラスに分類される。カチオン性リポソームは、正に帯電したリポソームであり、負に帯電した核酸分子と相互作用して、安定な複合体を形成する。正に帯電した核酸／リポソーム複合体は、負に帯電した細胞表面に結合し、エンドソームに内在化される。エンドソーム内の酸性ｐＨにより、リポソームは破裂して、その内容物を細胞質中へと放出する［Wang et al. (1987) Biochem. Biophys. Res. Commun., 147:980-985］。

【０５６１】

リポソームは、ｐＨ感応性（ｐＨ－ｓｅｎｓｉｔｉｖｅ）であるかまたは負に帯電しており、それらとの複合体ではなく核酸を捕捉する。核酸および脂質の両方が、同じように荷電されるため、複合体形成ではなく反発が生じる。それにもかかわらず、いくらかの核酸は、これらのリポソームの水性内部へと捕捉される。チミジンキナーゼ遺伝子をコードする核酸を培養中の細胞単層にデリバリーするために、ｐＨ感応性リポソームが使用されている。外因性遺伝子の発現が、標的遺伝子において検出された［Zhou et al. (1992) Journal of Controlled Release, 19:269-274］。

【０５６２】

リポソーム組成物の主要なタイプの１つは、天然由来のホスファチジルコリン以外のリン脂質を含む。中性リポソーム組成物は、例えば、ジミリストイルホスファチジルコリン（ＤＭＰＣ）またはジパルミトイルホスファチジルコリン（ＤＰＰＣ）から形成すること

ができる。アニオン性リポソーム組成物は、概して、ジミリストイルホスファチジルグリセロールから形成され、その一方で、アニオン性融合リポソームは、主に、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン（ＤＯＰＥ）から形成される。別のタイプのリポソーム組成物は、ホスファチジルコリン（ＰＣ）、例えば、大豆ＰＣおよび卵ＰＣなど、から形成される。別のタイプは、リン脂質またはホスファチジルコリンまたはコレステロールの混合物から形成される。

【０５６３】

インビトロおよびインビボにおいてリポソームを細胞に導入する他の方法の例としては、米国特許第５，２８３，１８５号；米国特許第５，１７１，６７８号；ＷＯ９４／００５６９；ＷＯ９３／２４６４０；ＷＯ９１／１６０２４；Felgner, (1994) J. Biol. Chem. 269:2550; Nabel, (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. 90:11307; Nabel, (1992) Human Gene Ther. 3:649; Gershon, (1993) Biochem. 32:7143; and Strauss, (1992) EMBO J. 11:417が挙げられる。

【０５６４】

非イオン性リポソーム系、特に、非イオン性界面活性剤とコレステロールとを含む系も、皮膚への薬物のデリバリーにおけるそれらの有用性を判定するために調べられている。ノバソーム（Ｎｏｖａｓｏｍｅ）（商標）　Ｉ（ジラウリン酸グリセリル／コレステロール／ポリオキシエチレン－１０－ステアリルエーテル）およびノバソーム（商標）　ＩＩ（ジステアリン酸グリセリル／コレステロール／ポリオキシエチレン－１０－ステアリルエーテル）を含む非イオン性リポソーム製剤が、マウスの皮膚の真皮中にシクロスポリン－Ａをデリバリーするために使用された。結果は、そのような非イオン性リポソーム系が、皮膚の異なる層中へのシクロスポリン－Ａの蓄積を促進することにおいて有効であることを示した［Hu et al., (1994) S.T.P.Pharma. Sci., 4(6):466］。

【０５６５】

リポソームは、「立体的に安定化された」リポソームも含み、当該用語は、本明細書において使用される場合、リポソームに組み込まれた場合に、結果としてそのような特化された脂質を欠くリポソームと比較して増強された循環寿命を生じるような１つまたは複数の特化された脂質を含むリポソームを意味する。立体的に安定化されたリポソームの例は、リポソームのベシクル形成脂質部分の一部が、（Ａ）１つまたは複数の糖脂質、例えば、モノシアロガングリオシドG_{M1}を含むもの、または（Ｂ）：１つまたは複数の親水性ポリマー、例えば、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）部分などによって誘導体化されるものである。いかなる特定の理論にも束縛されることを望まないが、少なくとも、ガングリオシド、スフィンゴミエリン、またはＰＥＧ誘導体化脂質を含む立体的に安定化されたリポソームの場合、これらの立体的に安定化されたリポソームの増強された循環半減期は、細網内皮系（ＲＥＳ）の細胞内への減少した取り込みに由来すると、当技術分野において考えられる［Allen et al., (1987) FEBS Letters, 223:42; Wu et al., (1993) Cancer Research, 53:3765］。

【０５６６】

１つまたは複数の糖脂質を含む様々なリポソームが、当技術分野で公知である。Ｐａｐａｈａｄｊｏｐｏｕｌｏｓら［Ann. N.Y. Acad. Sci., (1987), 507:64］は、リポソームの血液半減期を改善する、モノシアロガングリオシドＧＭ１、硫酸ガラクトセレブロシドサルフェート、およびホスファチジルイノシトールの能力について報告している。これらの知見は、Ｇａｂｉｚｏｎら［Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., (1988), 85,:6949］によって解説されている。米国特許第４，８３７，０２８号およびＷＯ８８／０４９２４（両方ともＡｌｌｅｎらによる）では、（１）スフィンゴミエリン、および（２）ガングリオシドＧＭ１またはガラクトセレブロシド硫酸エステルを含むリポソームが開示されている。米国特許第５，５４３，１５２号（Ｗｅｂｂら）では、スフィンゴミエリンを含むリポソームについて開示されている。１，２－ｓｎ－ジミリストイルホスファチジルコリンを含むリポソームが、ＷＯ９７／１３４９９（Ｌｉｍら）において開示されている。

【０５６７】
一実施形態において、カチオン性リポソームが使用される。カチオン性リポソームは、細胞膜に融合することができるという利点を有する。非カチオン性リポソームは、原形質膜と効率的には融合することができないが、インビボにおいてマクロファージによって取り込まれるため、ＲＮＡｉ剤をマクロファージにデリバリーするために使用することができる。
【０５６８】
リポソームのさらなる利点としては、天然のリン脂質から得られるリポソームが生体適合性および生分解性であること；リポソームは、様々な水および脂質溶解性薬物を組み込むことができること；リポソームは、それらの内部コンパートメント内のカプセル化されたＲＮＡｉ剤を、代謝および劣化から保護することができることが挙げられる［Rosoff, in "Pharmaceutical Dosage Forms," Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, volume 1, p. 245］。リポソーム製剤の調製における重要な考慮すべき事柄は、脂質表面の電荷、ベシクルのサイズ、およびリポソームの水の量である。
【０５６９】
正に帯電した合成カチオン性脂質であるＮ－［１－（２，３－ジオレイルオキシ）プロピル］－Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチル塩化アンモニウム（ＤＯＴＭＡ）は、小さいリポソームを形成するために使用することができ、リポソームは、自然に核酸と相互作用して、組織培養細胞の細胞膜の負に帯電した脂質と融合することができる脂質－核酸複合体を形成し、それにより、結果としてＲＮＡｉ剤のデリバリーをもたらす（例えば、ＤＯＴＭＡおよびＤＮＡによるその使用の説明は、Felgner, P. L. et al., (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 8:7413-7417、および米国特許第４，８９７，３５５号を参照されたい）。
【０５７０】
ＤＯＴＭＡアナログである１，２－ビス（オレオイルオキシ）－３－（トリメチルアンモニア）プロパン（ＤＯＴＡＰ）は、リン脂質と組み合わせて使用することにより、ＤＮＡ複合体化ベシクルを形成することができる。リポフェクチン（商標）（Ｂｅｔｈｅｓｄａ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、ゲイザースバーグ、メリーランド州）は、負に帯電したポリヌクレオチドと自然に相互作用して複合体を形成する正に帯電したＤＯＴＭＡリポソームを含む、生きた組織培養細胞内への高いアニオン性の核酸のデリバリーのための有効な薬剤である。十分に正に帯電したリポソームが使用される場合、結果として得られる複合体上の正味電荷も正である。この方法において調製された正に帯電した複合体は、負に帯電した細胞表面に自然に付着し、原形質膜と融合して、機能的核酸を、例えば、組織培養細胞内へと効率的にデリバリーする。別の市販のカチオン性脂質である１，２－ビス（オレオイルオキシ）－３，３－（トリメチルアンモニア）プロパン（「ＤＯＴＡＰ」）（Ｂｏｅｈｒｉｎｇｅｒ　Ｍａｎｎｈｅｉｍ、インディアナポリス、インディアナ）は、オレオイル部分が、エーテル連結ではなくエステルによって連結されている点においてＤＯＴＭＡとは異なっている。
【０５７１】
他の報告されたカチオン性脂質化合物としては、様々な部分にコンジュゲートしているもの、例えば、２つのタイプの脂質の一方にコンジュゲートしているカルボキシスペルミンなど、ならびに５－カルボキシスペルミルグリシンジオクタオレオイルアミド（「ＤＯＧＳ」）（トランスフェクタム（商標）、Ｐｒｏｍｅｇａ、マディソン、ウィスコンシン州）およびジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン５－カルボキシスペルミル－アミド（「ＤＰＰＥＳ」）などの化合物が挙げられる（例えば、米国特許第５，１７１，６７８号を参照されたい）。
【０５７２】
別のカチオン性脂質コンジュゲートは、ＤＯＰＥと組み合わせてリポソーム中へと製剤化されているコレステロールによる脂質の誘導体化（「ＤＣ－Ｃｈｏｌ」）を含む［Gao, X. and Huang, L., (1991) Biochim. Biophys. Res. Commun. 179:280を参

照されたい］。ポリリジンをＤＯＰＥにコンジュゲートさせることによって作製されたリポポリリジンは、血清の存在下でのトランスフェクションにとって効果的であることが報告されている［Zhou, X. et al., (1991) Biochim. Biophys. Acta 1065:8］。ある特定の細胞系にとって、コンジュゲートしたカチオン性脂質を含むこれらのリポソームは、低い毒性を示すと言われており、ＤＯＴＭＡ含有組成物よりもより効率的なトランスフェクションを提供する。他の市販のカチオン性脂質製品としては、ＤＭＲＩＥおよびＤＭＲＩＥ－ＨＰ（Ｖｉｃａｌ、ラ・ホーヤ、カリフォルニア）およびリポフェクタミン（ＤＯＳＰＡ）（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．、ゲイザースバーグ、メリーランド州）が挙げられる。オリゴヌクレオチドのデリバリーにとって好適な他のカチオン性脂質は、ＷＯ９８／３９３５９およびＷＯ９６／３７１９４に記載されている。

【０５７３】

リポソーム製剤は、局所性投与に対して特に適しており、リポソームは、他の製剤に勝るいくつかの利点を提示する。そのような利点としては、投与された薬物の高い体内吸収に関連する副作用の減少、所望の標的での投与された薬物の累積の増加、およびＲＮＡｉ剤を皮膚に投与する能力が挙げられる。いくつかの実践形態において、リポソームは、ＲＮＡｉ剤を上皮細胞にデリバリーするため、および皮膚組織内、例えば、皮膚内へのＲＮＡｉ剤の浸透を増強するためにも、使用される。例えば、リポソームは、局所的に適用することができる。リポソームとして製剤化された薬物の皮膚への局所デリバリーは、文献に報告されている［例えば、Weiner et al., (1992) Journal of Drug Targeting, vol. 2,405-410 and du Plessis et al., (1992) Antiviral Research, 18:259-265; Mannino, R. J. and Fould-Fogerite, S., (1998) Biotechniques 6:682-690; Itani, T. et al., (1987) Gene 56:267-276; Nicolau, C. et al. (1987) Meth. Enzymol. 149:157-176; Straubinger, R. M. and Papahadjopoulos, D. (1983) Meth. Enzymol. 101:512-527; Wang, C. Y. and Huang, L., (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:7851-7855を参照されたい］。

【０５７４】

非イオン性リポソーム系、特に、非イオン性界面活性剤とコレステロールを含む系、も、皮膚への薬物のデリバリーにおけるそれらの有用性を判定するためにも調べられている。マウスの皮膚の真皮内に薬物をデリバリーするために、ノバソームＩ（ジラウリン酸グリセリル／コレステロール／ポリオキシエチレン－１０－ステアリルエーテル）およびノバソームＩＩ（ジステアリン酸グリセリル／コレステロール／ポリオキシエチレン－１０－ステアリルエーテル）を含む非イオン性リポソーム製剤が使用された。ＲＮＡｉ剤を伴うそのような製剤は、皮膚科障害を処置するために有用である。

【０５７５】

ＲＮＡｉ剤を含むリポソームは、非常に変形可能に作製することができる。そのような変形能は、リポソームがリポソームの平均半径より小さい孔を通って浸透することを可能にする。例えば、トランスファーソームは、変形可能なタイプのリポソームである。トランスファーソームは、表面エッジ活性化剤（ｓｕｒｆａｃｅ ｅｄｇｅ ａｃｔｉｖａｔｏｒ）、通常は界面活性剤を標準的リポソーム組成物に加えることによって作製することができる。ＲＮＡｉ剤を含むトランスファーソームは、ＲＮＡｉ剤を皮膚のケラチン生成細胞にデリバリーするために、感染によって、例えば皮下に、デリバリーすることができる。無傷の哺乳動物の皮膚を横断するために、脂質ベシクルは、好適な経皮勾配の影響下において、それぞれが５０ｎｍ未満の直径を有する一連の微細な孔を通過しなければならない。加えて、脂質特性に起因して、これらのトランスファーソームは、自己最適性（例えば皮膚などにおける孔の形状に適応性のある）、自己修復性であり得、ならびに断片化することなく頻繁にそれらの標的に達することができ、多くの場合、自己装填することができる。

【０５７６】

本発明の開示に適した他の製剤は、２００８年１２月１３日に出願されたＰＣＴ出願第ＰＣＴ／ＵＳ２００８／０８８５８８号；２００８年１２月１３日に出願された第ＰＣＴ

／ＵＳ２００８／０８８５８７号；２００９年４月２２日に出願された第ＰＣＴ／ＵＳ２００９／０４１４４２号；および２００７年１０月３日に出願された第ＰＣＴ／ＵＳ２００７／０８０３３１号に記載される。

【０５７７】

トランスファーソームは、別のタイプのリポソームであり、薬物デリバリーシステムの魅力的な候補である、非常に変形可能な脂質集合体である。トランスファーソームは、非常に変形可能であるため、脂質滴より小さい孔を通って容易に浸透することができる、脂質滴として説明することができる。トランスファーソームは、それらが使用される環境に適応し、例えば、それらは、自己最適性（皮膚における孔の形状に適応性のある）であり、自己修復性であり、断片化することなく頻繁にそれらの標的に達し、多くの場合、自動装填性である。トランスファーソームを作製するために、表面エッジ活性化剤、通常は界面活性剤を標準的リポソーム組成物に加えることができる。トランスファーソームは、皮膚に血清アルブミンをデリバリーするために使用されてきた。血清アルブミンのトランスファーソーム媒介デリバリーは、血清アルブミンを含有する溶液の皮下注入と同じくらい有効であることが分かっている。

【０５７８】

界面活性剤は、本明細書において説明されるような製剤において、特にエマルション（マイクロエマルションを含む）において、広い応用を見い出す。天然および合成の、多くの異なるタイプの界面活性剤の特性を分類および格付けする最も一般的な方法は、親水性／親油性バランス（ＨＬＢ）の使用による方法である。親水性基（「ヘッド」としても知られる）の性質は、製剤に使用される様々な界面活性剤をカテゴライズするための最も有用な手段を提供する（Rieger, in Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, p. 285）。

【０５７９】

界面活性剤分子がイオン化されない場合、それらは、非イオン性界面活性剤として分類される。非イオン性界面活性剤は、医薬品および化粧製品において広い応用を見い出し、広い範囲のｐＨ値において使用可能である。概して、それらのＨＬＢ値は、それらの構造に応じて２から約１８の範囲である。非イオン性界面活性剤としては、非イオン性エステル、例えば、エチレングリコールエステル、プロピレングリコールエステル、グリセリルエステル、ポリグリセリルエステル、ソルビタンエステル、スクロースエステル、およびエトキシル化エステルなどが挙げられる。非イオン性アルカノールアミドおよびエーテル、例えば、脂肪族アルコールエトキシレート、プロポキシル化アルコール、およびエトキシル化／プロポキシル化ブロックポリマーなど、も、このクラスに含まれる。ポリオキシエチレン界面活性剤は、非イオン性界面活性剤のクラスの最も一般的なメンバーである。

【０５８０】

水に溶解または分散されたときに、界面活性剤分子が負電荷を保持する場合、界面活性剤は、アニオン性として分類される。アニオン性界面活性剤としては、カルボキシレート、例えば、石鹸など、アシルラクチレート、アミノ酸のアシルアミド、硫酸のエステル、例えば、アルキル硫酸エステルおよびエトキシ化アルキル硫酸エステルなど、スルホネート、例えば、アキルベンゼンスルホネート、など、アシルイセチオネート、アシルタウレート、ならびにスルホスクシネートおよびホスフェートが挙げられる。アニオン性界面活性剤のクラスの最も一般的なメンバーは、アルキル硫酸エステルおよび石鹸である。

【０５８１】

水に溶解または分散されたときに、界面活性剤分子が正電荷を保持する場合、界面活性剤は、カチオン性として分類される。カチオン性界面活性剤としては、第四級アンモニウム塩およびエトキシ化アミンが挙げられる。第四級アンモニウム塩は、このクラスの最も使用されるメンバーである。

【０５８２】

界面活性剤分子が、正電荷または負電荷のどちらかを保持する能力を有する場合、界面活性剤は、両性として分類される。両性界面活性剤としては、アクリル酸誘導体、置換ア

ルキルアミド、Ｎ－アルキルベタインおよびホスファチドが挙げられる。薬品、製剤、およびエマルションにおける界面活性剤の使用は、概説されている（Ｒｉｅｇｅｒ，ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，１９８８，ｐ．２８５）。

【０５８３】

本開示の方法での使用のためのＲＮＡｉ剤は、ミセル製剤としても提供することができる。「ミセル」は、本明細書において、分子の全ての疎水性基が内側を向くように両親媒性分子が球状構造において整列され、それにより、親水性部分を周囲の水相に接触させたままにする、特定のタイプの分子アセンブリとして定義される。環境が疎水性の場合、逆の配置も存在する。

【０５８４】

経皮的な膜によるデリバリーにとって好適な混合ミセル製剤は、ｓｉＲＮＡ組成物の水溶液と、アルカリ金属のC_8からC_{22}アルキル硫酸塩と、ミセル形成化合物とを混合することによって調製され得る。例示的ミセル形成化合物としては、レシチン、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸の薬学的に許容される塩、グリコール酸、乳酸、カモミール抽出物、キュウリ抽出物、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、モノオレイン、モノオレエート、モノラウレート、ルリチシャ油、月見草油、メンソール、トリヒドロキシオキソコラニルグリシンおよびその薬学的に許容される塩、グリセリン、ポリグリセリン、リシン、ポリリジン、トリオレイン、ポリオキシエチレンエーテルおよびそのアナログ、ポリドカノールアルキルエーテルおよびそのアナログ、ケノデオキシコレート（ｃｈｅｎｏｄｅｏｘｙｃｈｏｌａｔｅ）、デオキシコレート、ならびにそれらの混合物が挙げられる。ミセル形成化合物は、アルカリ金属のアルキル硫酸塩と同時に加えてもよく、またはそれらを加えた後に加えてもよい。混合ミセルは、原材料の、実質的に任意の種類の混合によって形成されるであろうが、より小さいサイズのミセルを提供するために、激しい混合によって形成されるであろう。

【０５８５】

一方法において、第１のミセル組成物は、ｓｉＲＮＡ組成物と少なくともアルカリ金属アルキル塩酸塩とを含むように調製される。第１のミセル組成物は、次いで、少なくとも３つのミセル形成化合物と混合され、混合ミセル組成物を形成する。別の方法において、ミセル組成物は、ｓｉＲＮＡ組成物とアルカリ金属アルキル硫酸塩と、ミセル形成化合物のうちの少なくとも１つとを混合し、その後に、激しく混合しながら、残りのミセル形成化合物を加えることによって調製される。

【０５８６】

製剤を安定化させるため、および細菌増殖から保護するために、フェノールまたはｍ－クレゾールを混合ミセル組成物に加えてもよい。あるいは、フェノールまたはｍ－クレゾールを、ミセル形成原材料と共に加えてもよい。グリセリンなどの等張剤を、混合ミセル組成物の形成後に加えてもよい。

【０５８７】

噴霧剤としてのミセル製剤のデリバリーのために、製剤を、エアゾールディスペンサーに入れることができ、ディスペンサーは、発射薬を装填される。加圧下の発射薬は、ディスペンサー内において液体状態である。原材料の比率は、水相および発射薬相が１つになるように、すなわち、１つの相が存在するように調整される。２つの相が存在する場合、例えば、計量式バルブなどによって、内容物の一部を分配する前に、ディスペンサーを振盪する必要がある。医薬品の分配用量が、微細な噴霧において計量式バルブから射出される。

【０５８８】

発射薬は、含水素クロロフルオロカーボン、含水素フルオロカーボン、ジメチルエーテル、およびジエチルエーテルを含み得る。ある特定の実施形態において、ＨＦＡ１３４ａ（１，１，１，２テトラフルオロエタン）が使用され得る。

【０５８９】

必須の原材料の特定の濃度は、比較的簡単な実験によって決定することができる。口腔による吸収のために、射出のためまたは胃腸管を通る投与のために、投薬量を、例えば、少なくとも二倍または三倍に増加させることは、多くの場合、望ましい。

【０５９０】

Ｂ．脂質粒子

ＲＮＡｉ剤、例えば、本開示のｄｓＲＮＡは、脂質製剤、例えば、ＬＮＰなど、または他の核酸－脂質粒子において、完全にカプセル化され得る。

【０５９１】

本明細書において使用される場合、用語「ＬＮＰ」は、安定な核酸－脂質粒子を意味する。ＬＮＰは、典型的には、カチオン性脂質、非カチオン性脂質、および粒子の凝集を防ぐ脂質（例えば、ＰＥＧ－脂質コンジュゲート）を含む。ＬＮＰは、静脈内注射（ｉ．ｖ．）後に、延長された循環寿命を示し、遠位部位（例えば、投与部位から物理的に分離された部位）において蓄積するため、全身投与にとって非常に有用である。ＬＮＰは、「ｐＳＰＬＰ」を含み、それは、ＷＯ００／０３６８３において詳しく説明されるようなカプセル化された縮合剤－核酸複合体を含む。本開示の粒子は、典型的には、約５０ｎｍから約１５０ｎｍ、より典型的には約６０ｎｍから約１３０ｎｍ、より典型的には約７０ｎｍから約１１０ｎｍ、最も典型的には約７０ｎｍから約９０ｎｍの平均直径を有し、実質的に非毒性である。加えて、核酸は、本開示の核酸－脂質粒子中に存在する場合、水溶液中において、ヌクレアーゼによる分解に対して抵抗性を有する。核酸－脂質粒子およびその調製方法は、例えば、米国特許第５，９７６，５６７号；同第５，９８１，５０１号；同第６，５３４，４８４号；同第６，５８６，４１０号；同第６，８１５，４３２号；米国特許出願公開第２０１０／０３２４１２０号、およびＷＯ９６／４０９６４において開示されている。

【０５９２】

一実施形態において、脂質と薬物の比率（質量／質量比）（例えば、脂質とｄｓＲＮＡの比率）は、約１：１から約５０：１、約１：１から約２５：１、約３：１から約１５：１、約４：１から約１０：１、約５：１から約９：１、または約６：１から約９：１の範囲であるだろう。上記に列記した範囲の中間的な範囲も、本開示の一部であることが想到される。

【０５９３】

ＲＮＡｉ剤のデリバリーのためのある特定のＬＮＰ製剤は、例えば、参照により本明細書に組み込まれる、ＷＯ２００８／０４２９７３などにおいて説明されるような「ＬＮＰ０１」製剤など、当技術分野において説明されている。

【０５９４】

追加の例示的脂質－ｄｓＲＮＡ製剤は、下記の表１において特定される。

【０５９５】

【表１】

表１

	イオン化可能/カチオン性脂質	カチオン性脂質/非カチオン性脂質/コレステロール/PEG-脂質コンジュゲート 脂質siRNA比
SNALP-1	1,2-ジリノレニルオキシ-N,N-ジメチルアミノプロパン (DLinDMA)	DLinDMA/DPPC/コレステロール/PEG-cDMA (57.1/7.1/34.4/1.4) 脂質:siRNA 約 7:1
2-XTC	2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン (XTC)	XTC/DPPC/コレステロール/PEG-cDMA 57.1/7.1/34.4/1.4 脂質:siRNA 約 7:1
LNP05	2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン (XTC)	XTC/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 57.5/7.5/31.5/3.5 脂質:siRNA 約 6:1
LNP06	2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン (XTC)	XTC/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 57.5/7.5/31.5/3.5 脂質:siRNA 約 11:1
LNP07	2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン (XTC)	XTC/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 60/7.5/31/1.5, 脂質:siRNA 約 6:1
LNP08	2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン (XTC)	XTC/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 60/7.5/31/1.5, 脂質:siRNA 約 11:1
LNP09	2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン (XTC)	XTC/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA 10:1
LNP10	(3aR,5s,6aS)-N,N-ジメチル-2,2-ジ((9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエニル)テトラヒドロ-3aH-シクロペンタ [d][1,3]ジオキソール-5-アミン(ALN100)	ALN100/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA 10:1
LNP11	(6Z,9Z,28Z,31Z)-ヘプタトリアコンタ-6,9,28,31-テトラエン-19-イル4-(ジメチルアミノ)ブタノエート(MC3)	MC-3/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA 10:1

LNP12	1,1'-(2-(4-(2-((2-(ビス(2-ヒドロキシドデシル)アミノ)エチル)(2-ヒドロキシドデシル)アミノ)エチル)ピペラジン-1-イル)エチルアザンジイル)ジドデカン-2-オール (Tech G1)	Tech G1/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA 10:1
LNP13	XTC	XTC/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA: 33:1
LNP14	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 40/15/40/5 脂質:siRNA: 11:1
LNP15	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DSG/GalNAc-PEG-DSG 50/10/35/4.5/0.5 脂質:siRNA: 11:1
LNP16	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA: 7:1
LNP17	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA: 10:1
LNP18	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA: 12:1
LNP19	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/35/5 脂質:siRNA: 8:1
LNP20	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DPG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA: 10:1
LNP21	C12-200	C12-200/DSPC/Chol/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA: 7:1
LNP22	XTC	XTC/DSPC/Chol/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA: 10:1

DSPC: ジステアロイルホスファチジルコリン

DPPC: ジパルミトイルホスファチジルコリン

PEG-DMG: PEG-ジミリストイルグリセロール(PEG-didimyristoyl glycerol) (C14-PEG、またはPEG-C14) (PEGは2000の平均分子量を有する)

PEG-DSG: PEG-ジステアリルグリセロール(C18-PEG、またはPEG-C18) (PEGは2000の平均分子量を有する)

PEG-cDMA: PEG-カルバモイル-1,2-ジミリスチルオキシプロピルアミン(PEGは2000の平均分子量を有する)

【０５９６】

ＳＮＡＬＰ（１，２－ジリノレニルオキシ－Ｎ，Ｎ－ジメチルアミノプロパン（ＤＬｉｎＤＭＡ））を含む製剤は、参照により本明細書に組み込まれる、ＷＯ２００９／１２７

０６０に記載されている。
【０５９７】
ＸＴＣを含む製剤は、ＷＯ２０１０／０８８５３７に記載されており、その内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。ＭＣ３を含む製剤は、例えば、米国特許出願公開第２０１０／０３２４１２０号に記載されており、その内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。
【０５９８】
ＡＬＮＹ－１００を含む製剤は、ＷＯ２０１０／０５４４０６に記載されており、その内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。
【０５９９】
Ｃ１２－２００を含む製剤は、ＷＯ２０１０／１２９７０９に記載されており、その内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。
【０６００】
経口投与用の組成物および製剤としては、粉末剤または粒剤、マイクロ粒子、ナノ粒子、水または非水性媒体における懸濁剤または溶液剤、カプセル剤、ゲルカプセル剤、サッシェ、錠剤またはミニ錠剤が挙げられる。増粘剤、矯臭剤、希釈剤、乳化剤、分散助剤、または結合剤は、望ましくあり得る。一部の実施形態において、経口製剤は、本開示において特徴とされるｄｓＲＮＡが、１つまたは複数の浸透促進剤、界面活性剤、およびキレート化剤と併せて投与される、製剤である。好適な界面活性剤としては、脂肪酸またはエステルまたはそれらの塩、胆汁酸またはそれらの塩が挙げられる。好適な胆汁酸／塩としては、ケノデオキシコール酸（ＣＤＣＡ）およびウルソデオキシケノデオキシコール酸（ＵＤＣＡ）、コール酸、デヒドロコール酸、デオキシコール酸、グルコール酸（ｇｌｕｃｈｏｌｉｃ　ａｃｉｄ）、グリコール酸（ｇｌｙｃｈｏｌｉｃ　ａｃｉｄ）、グリコデオキシコール酸、タウロコール酸、タウロデオキシコール酸、タウロ－２４，２５－ジヒドロ－フシジン酸ナトリウムおよびグリコジヒドロフシジン酸ナトリウムが挙げられる。好適な脂肪酸としては、アラキドン酸、ウンデカン酸、オレイン酸、ラウリン酸、カプリル酸、カプリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸リノール酸、リノレン酸、ジカプロエート、トリカプロエート、モノオレイン、ジラウリン、グリセリル１－モノカプロエート、１－ドデシルアザシクロヘプタナ－２－オン、アシルカルニチン、アシルコリン、またはモノグリセライド、ジグリセリド、またはその薬学的に許容される塩（例えば、ナトリウム）が挙げられる。一部の実施形態において、浸透促進剤の組合せ、例えば、胆汁酸／塩と組み合わされた脂肪酸／塩などが使用される。例示的組合せの１つは、ラウリン酸、カプリン酸、およびＵＤＣＡのナトリウム塩である。さらに、浸透促進剤としては、ポリオキシエチレン－９－ラウリルエーテル、ポリオキシエチレン－２０－セチルエーテルが挙げられる。本開示において特徴とされるｄｓＲＮＡは、噴霧された乾燥粒子などの粒状において、経口によりデリバリーすることができ、またはマイクロ粒子またはナノ粒子を形成するために複合体化することができる。ｄｓＲＮＡ複合剤としては、ポリ－アミノ酸；ポリイミン；ポリアクリレート；ポリアルキルアクリレート、ポリアルキルアクリレート、ポリアルキルシアノアクリレート；カチオン化されたゼラチン、アルブミン、デンプン、アクリレート、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、およびデンプン；ポリアルキルシアノアクリレート；ＤＥＡＥ誘導体化ポリイミン、プルラン（ｐｏｌｌｕｌａｎ）、セルロース、およびデンプンが挙げられる。好適な複合剤としては、キトサン、Ｎ－トリメチルキトサン、ポリ－Ｌリジン、ポリヒスチジン、ポリオルニチン、ポリスペルミン、プロタミン、ポリビニルピリジン、ポリチオジエチルアミノメチルエチレンＰ（ＴＤＡＥ）、ポリアミノスチレン（例えば、ｐ－アミノ）、ポリ（メチルシアノアクリレート）、ポリ（エチルシアノアクリレート）、ポリ（ブチルシアノアクリレート）、ポリ（イソブチルシアノアクリレート）、ポリ（イソヘキシルシアノアクリレート）、ＤＥＡＥ－メタクリレート、ＤＥＡＥ－ヘキシルアクリレート、ＤＥＡＥ－アクリルアミド、ＤＥＡＥ－アルブミン、およびＤＥＡＥデキストラン、ポリメチルアクリレート、ポリヘキシルアクリレート、ポリ（Ｄ，Ｌ－乳酸）、ポリ（ＤＬ－乳酸－コ－グリコール酸（ＰＬ

ＧＡ）、アルギネート、およびポリエチレングリコール（ＰＥＧ）が挙げられる。ｄｓＲＮＡのための経口製剤およびその調製は、米国特許第６，８８７，９０６号、米国特許出願公開第２００３／００２７７８０号、および米国特許第６，７４７，０１４号において詳細に説明されており、それぞれ参照により本明細書に組み込まれる。

【０６０１】

非経口、実質内（脳内へ）、髄腔内、脳室内、または肝内投与のための組成物および製剤は、緩衝剤、希釈剤、および他の好適な添加剤、例えば、これらに限定されるわけではないが、浸透促進剤、担体化合物、他の薬学的に許容される担体または賦形剤などを含むことができる滅菌水溶液を含むことができる。

【０６０２】

本開示の医薬組成物は、溶液、エマルション、およびリポソームを含有する製剤を含む。これらの組成物は、これらに限定されるわけではないが、予め形成された液体、自己乳化性固体、および自己乳化性半固体を含む様々な成分から生成することができる。例示的な製剤としては、ＡＢＬＩＭ３関連疾患または障害を処置または防止する場合に脳を標的化するものが挙げられる。

【０６０３】

本開示の医薬製剤は、単位剤形において簡便に提示することができ、製薬産業において周知の従来技術に従って調製することができる。そのような技術は、活性成分を医薬担体または賦形剤と混合する工程を含む。概して、製剤は、活性成分を液体担体または微粉化された固体担体またはその両方と均一にかつ密接に混合し、次いで、必要であれば、生成物を成形することによって調製される。

【０６０４】

本開示の組成物は、例えば、これらに限定されるわけではないが、錠剤、カプセル剤、ゲルカプセル剤、液体シロップ、軟質ゲル、坐剤、および浣腸剤などの多くの可能な剤形のいずれかへと製剤化することができる。本開示の組成物は、水性媒質、非水性媒質、または混合媒質における懸濁液としても製剤化することができる。水懸濁液は、懸濁液の粘度を増加させる物質、例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトール、またはデキストランなどをさらに含有することができる。懸濁液は、安定化剤も含有することができる。

【０６０５】

Ｃ．さらなる製剤

ｉ．エマルション

本開示の組成物は、エマルションとして調製および製剤化することができる。エマルションは、典型的には、一方の液体が通常は直径０．１μｍを超える液滴の形態において別の液体に分散された不均質系である［例えば、Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199; Rosoff, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Volume 1, p. 245; Block in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 2, p. 335; Higuchi et al., in Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985, p. 301を参照されたい］。エマルションは、多くの場合、お互いに十分に混合され分散された２つの不混和性液相を含む二相系である。一般的に、エマルションは、油中水（ｗ／ｏ）種または水中油（ｏ／ｗ）種のどちらかであり得る。水相が、微細化されて微細な液滴として大量の油相中に分散されている場合、結果として得られる組成物は、油中水（ｗ／ｏ）エマルションと呼ばれる。あるいは、油相が、微細化されて微細な液滴として大量の水相中に分散されている場合、結果として得られる組成物は、水中油（ｏ／

ｗ）エマルションと呼ばれる。エマルションは、分散相および、水相中また油相中のどちらかの溶液としてまたはそれ自体別々の相として存在し得る活性薬物に加えて、追加の成分を含有することができる。乳化剤、安定化剤、染料、および抗酸化剤などの医薬品賦形剤も、必要であれば、エマルション中に存在していてもよい。医薬エマルションは、例えば、油中水中油（ｏ／ｗ／ｏ）および水中油中水（ｗ／ｏ／ｗ）エマルションの場合など、３相以上で構成される多相エマルションでもあってもよい。そのような複合製剤は、多くの場合、単純な二相エマルションでは提供することができないある特定の利点を提供する。ｏ／ｗエマルションの個々の油滴が小さい水滴を封入する多相エマルションは、ｗ／ｏ／ｗエマルションを構成する。同様に、連続油相中において安定化された水の小滴中に封入された油滴の系は、ｏ／ｗ／ｏエマルションを提供する。

【０６０６】

エマルションは、熱力学的安定性がほとんどないかまたは全くないことによって特徴付けられる。多くの場合、エマルションの分散相または不連続相は、外部相または連続相中によく分散されており、乳化剤または製剤の粘度によってこの形態に維持される。エマルション様式の軟膏基剤およびクリーム剤の場合と同様に、エマルションの相のいずれかは、半固体または固体であってもよい。エマルションを安定化するその他の手段は、乳化剤の使用を伴い、それらは、エマルションのいずれかの相に組み込まれ得る。乳化剤は、以下の４つのカテゴリ：合成界面活性剤、天然乳化剤、吸収基剤、および微細分散固体に大きく分類することができる［例えば、Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199を参照されたい］。

【０６０７】

表面活性剤としても知られる合成界面活性剤は、エマルションの製剤化において広い適用可能性を見出しており、文献において概説されている［例えば、Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Rieger, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 285; Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, volume 1, p. 199を参照されたい］。界面活性剤は、典型的には両親媒性であり、親水性部分および疎水性部分を含む。界面活性剤の疎水性性質に対する親水性性質の比は、親水性／親油性バランス（ＨＬＢ）と命名されており、製剤の調製において界面活性剤を分類および選択する際の有益なツールである。界面活性剤は、親水性基の性質に基づいて以下の異なるクラス：非イオン性、アニオン性、カチオン性、および両性に分類することができる［例えば、Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY Rieger, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 285を参照されたい］。

【０６０８】

エマルション製剤において使用される天然の乳化剤としては、ラノリン、蜜蝋、ホスファチド、レシチン、およびアカシアが挙げられる。脱水ラノリンおよび親水性ワセリンなどの吸収基剤は、親水特性を有し、そのため、それらは、水を吸い上げてｗ／ｏエマルションを形成し、それでもなお、それらの半固体の稠度を維持することができる。微粒子固体も、とりわけ界面活性剤との組合せにおいて、および粘性調製物において、良好な乳化剤として使用されている。これらは、極性無機固体、例えば、重金属水酸化物など、膨潤クレー、例えば、ベントナイト、アタパルジャイト、ヘクトライト、カオリン、モンモリ

ロナイト、コロイド状ケイ酸アルミニウムおよびコロイド状ケイ酸アルミニウムマグネシウムなど、顔料、および非極性固体、例えば、炭素またはトリステアリン酸グリセリンなどを含む。

【０６０９】

非常に多様な非乳化材料も、エマルション製剤に含まれ、エマルションの特性に貢献する。そのようなものとしては、脂肪、油、ワックス、脂肪酸、脂肪アルコール、脂肪エステル、湿潤剤、親水性コロイド、保存料、および抗酸化剤が挙げられる［Block, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 335; Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199］。

【０６１０】

親水性コロイドまたはハイドロコロイドとしては、天然ゴムおよび合成ポリマー、例えば、多糖（例えば、アカシア、寒天、アルギン酸、カラゲナン、グアーゴム、カラヤゴム、およびトラガカント）、セルロース誘導体（例えば、カルボキシメチルセルロースおよびカルボキシプロピルセルロース）、および合成ポリマー（例えば、カルボマー、セルロースエーテル、およびカルボキシビニルポリマー）などが挙げられる。これらは、水に分散または膨潤して、コロイド状溶液を形成し、それは、分散相液滴の周囲に強力な界面フィルムを形成すること、および外部相の粘度を増加することによって、エマルションを安定化する。

【０６１１】

エマルションは、多くの場合、微生物の増殖を容易に支援することができる多くの成分、例えば、炭水化物、タンパク質、ステロール、およびホスファチドなどを含有するため、これらの製剤は、多くの場合、保存料が組み込まれている。エマルション製剤に含まれる一般的に使用される保存料としては、メチルパラベン、プロピルパラベン、４級アンモニウム塩、塩化ベンザルコニウム、ｐ－ヒドロキシ安息香酸のエステル、およびホウ酸が挙げられる。製剤の劣化を防ぐために、抗酸化剤も、一般的に、エマルション製剤に加えられる。使用される抗酸化剤は、フリーラジカル捕捉剤、例えば、トコフェロール、没食子酸アルキル、ブチル化ヒドロキシアニソール、ブチル化ヒドロキシトルエンなど、または還元剤、例えば、アスコルビン酸およびメタ重亜硫酸ナトリウムなど、ならびに酸化防止相乗剤、例えば、クエン酸、酒石酸、およびレシチンなどであり得る。

【０６１２】

皮膚、経口、および非経口経路によるエマルション製剤の適用ならびにそれらの製造方法は、文献において概説されている［例えば、Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199を参照されたい］。経口デリバリー用のエマルション製剤は、製剤の容易さ、ならびに吸収およびバイオアベイラビリティの見地からの有効性により、非常に広く使用されている［例えば、Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Rosoff, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 245; Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199を参照されたい］。鉱油系緩下剤、脂溶性ビタミン、および高脂肪栄養製剤は、ｏ／ｗエマルションとして一般的に経口投与されている材料の１つである。

【０６１３】

ｉｉ．マイクロエマルション

本開示の一実施形態において、ＲＮＡｉ剤および核酸の組成物は、マイクロエマルションとして製剤化される。マイクロエマルションは、単一の光学的に等方性で熱力学的に安定な液体溶液である、水、油、および両親媒性物質の系として定義することができる［例えば、Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Rosoff, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 245を参照されたい］。典型的には、マイクロエマルションは、油を界面活性剤水溶液に分散させ、次いで、十分な量の第４の成分、概して中鎖長のアルコールを加えて透明な系を形成することによって調製される系である。したがって、マイクロエマルションは、表面活性分子の界面フィルムによって安定化される、２つの不混和性液体の熱力学的に安定で等方的に澄明な分散液として説明されている（Leung and Shah, in: Controlled Release of Drugs: Polymers and Aggregate Systems, Rosoff, M., Ed., 1989, VCH Publishers, New York, pages 185-215）。マイクロエマルションは、一般的に、油、水、界面活性剤、補助界面活性剤、および電解質を含む３つから５つの成分を組み合わせることによって調製される。マイクロエマルションが油中水（ｗ／ｏ）タイプまたは水中油（ｏ／ｗ）タイプのどちらであるかは、使用される油および界面活性剤の特性、ならびに界面活性剤分子の極性ヘッドおよび炭化水素テールの構造および幾何学的パッキングに依存する（Schott, in Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985, p. 271）。

【０６１４】

状態図を利用する現象論的アプローチが、広く研究されており、それは、マイクロエマルションをどのようにして製剤化するかの包括的な知識を当業者にもたらした［例えば、Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Rosoff, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 245; Block, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 335を参照されたい］。従来のエマルションと比較して、マイクロエマルションは、水不溶性薬物を、自然発生的に形成された熱力学的に安定な液滴の製剤に可溶化するという利点を提供する。

【０６１５】

マイクロエマルションの調製において使用される界面活性剤としては、これらに限定されるわけではないが、単独での、または補助界面活性剤と組み合わせた、イオン性界面活性剤、非イオン性界面活性剤、Ｂｒｉｊ９６、ポリオキシエチレンオレイルエーテル、ポリグリセロール脂肪酸エステル、テトラグリセロールモノラウレート（ＭＬ３１０）、テトラグリセロールモノオレエート（ＭＯ３１０）、ヘキサグリセロールモノオレエート（ＰＯ３１０）、ヘキサグリセロールペンタオレエート（ＰＯ５００）、デカグリセロールモノカプロエート（ＭＣＡ７５０）、デカグリセロールモノオレエート（ＭＯ７５０）、デカグリセロールセスキオレエート（ＳＯ７５０）、デカグリセロールデカオレエート（ＤＡＯ７５０）が挙げられる。補助界面活性剤は、通常はエタノール、１－プロパノール、および１－ブタノールなどの短鎖アルコールであり、界面活性剤フィルムに浸透し、その結果、界面活性剤分子の間に生じるボイドスペースにより、乱れたフィルムを作り出すことによって、界面の流動性を増加させる役割を果たす。しかしながら、マイクロエマルションは、補助界面活性剤を用いずに調製することもでき、アルコール不含自己乳化性マイクロエマルション系は、当技術分野で公知である。水相は、典型的には、これらに限定されるわけではないが、水、薬物の水溶液、グリセロール、ＰＥＧ３００、ＰＥＧ４００、ポリグリセロール、プロピレングリコール、およびエチレングリコールの誘導体であり得る。油相は、これらに限定されるわけではないが、Ｃａｐｔｅｘ　３００、Ｃａｐｔｅ

ｘ　３５５、Ｃａｐｍｕｌ　ＭＣＭ、脂肪酸エステル、中鎖（Ｃ８～Ｃ１２）モノ、ジ、およびトリグリセリド、ポリオキシエチル化グリセリル脂肪酸エステル、脂肪アルコール、ポリグリコール化グリセリド、飽和ポリグリコール化Ｃ８～Ｃ１０グリセリド、植物油、およびシリコーン油などの材料を含むことができる。

【０６１６】

マイクロエマルションは、薬物可溶化および薬物の吸収増強の見地から、特に興味深い。脂質系マイクロエマルション（ｏ／ｗおよびｗ／ｏの両方）は、ペプチドなどの薬物の経口バイオアベイラビリティを増強すると提唱されている（例えば、米国特許第６，１９１，１０５号；同第７，０６３，８６０号；同第７，０７０，８０２号；同第７，１５７，０９９号；Constantinides et al., Pharmaceutical Research, 1994, 11, 1385-1390; Ritschel, Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol., 1993, 13, 205を参照されたい）。マイクロエマルションは、薬物の可溶化の向上、酵素加水分解からの薬物の保護、界面活性剤によって誘導される膜流動性および浸透性の変化に起因する、薬物吸収における可能な増強、調製の容易さ、固体剤形よりも経口投与の容易さ、臨床効力の向上、および毒性の減少の利点を提供する（例えば、米国特許第６，１９１，１０５号；同第７，０６３，８６０号；同第７，０７０，８０２号；同第７，１５７，０９９号；Constantinides et al., Pharmaceutical Research, 1994, 11, 1385; Ho et al., J. Pharm. Sci., 1996, 85, 138-143を参照されたい）。多くの場合、マイクロエマルションは、それらの成分が周囲温度において一緒にされたとき、自然発生的に形成され得る。これは、易熱分解性の薬物であるペプチドまたはＲＮＡｉ剤を製剤化する場合に、特に有利であり得る。さらに、マイクロエマルションは、美容および医薬的適用の両方における、活性成分の経皮デリバリーにとっても効果的であった。本開示のマイクロエマルション組成物および製剤は、胃腸管からのＲＮＡｉ剤および核酸の全身吸収の増加、ならびにＲＮＡｉ剤および核酸の局所細胞取り込みの向上を促進するであろうことが予想される。

【０６１７】

本開示のマイクロエマルションは、製剤の性質を向上させるため、および本開示のＲＮＡｉ剤および核酸の吸収を高めるために、追加の成分および添加剤、例えば、ソルビタンモノステアレート（Ｇｒｉｌｌ　３）、ラブラソール（Ｌａｂｒａｓｏｌ）、および浸透促進剤など、も含有することができる。本開示のマイクロエマルションにおいて使用される浸透促進剤は、５つのカテゴリ：界面活性剤、脂肪酸、胆汁酸塩、キレート化剤、および非キレート化非界面活性剤のうちの１つに属するとして分類することができる（Lee et al., Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p. 92）。これらのクラスのそれぞれは、上記において説明されている。

【０６１８】

ｉｉｉ．マイクロ粒子

本開示のＲＮＡｉ剤は、粒子、例えば、マイクロ粒子などに組み込まれ得る。マイクロ粒子は、噴霧乾燥によって生成することができるが、凍結乾燥、蒸発、流動層乾燥、真空乾燥、またはこれらの技術の組合せなどの他の方法によっても生成され得る。

【０６１９】

ｉｖ．浸透促進剤

一実施形態において、本開示は、動物の皮膚への、核酸、特にＲＮＡｉ剤の効率的なデリバリーを実施するために、様々な浸透促進剤を採用する。ほとんどの薬物は、イオン化状態および非イオン化状態の両方において存在する。しかしながら、通常、脂溶性または親油性薬物のみが、細胞膜を容易に横断する。横断される膜が、浸透促進剤で処置されている場合、非親油性薬物も、細胞膜を横断することができることが分かっている。非親油性薬物が細胞膜を横断して拡散するのを支援することに加えて、浸透促進剤も、親油性薬物の透過性を高める。

【０６２０】

浸透促進剤は、５つの広いカテゴリ、すなわち、界面活性剤、脂肪酸、胆汁酸塩、キレ

ート化剤、および非キレート化非界面活性剤のうちの１つに属するとして分類することができる（例えば、Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002; Lee et al., Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p.92を参照されたい）。浸透促進剤の上記において言及されたクラスのそれぞれについては、以下においてより詳細に説明される。

【０６２１】

界面活性剤（または「表面活性剤」」は、水溶液中に溶解されたとき、溶液の表面張力または水溶液と別の液体との間の界面張力を減少させ、結果として、粘膜を通過するＲＮＡｉ剤の吸収を高める化学物質である。胆汁塩および脂肪酸に加えて、これらの浸透促進剤としては、例えば、ラウリル硫酸ナトリウム、ポリオキシエチレン－９－ラウリルエーテル、およびポリオキシエチレン－２０－セチルエーテルが挙げられる（例えば、Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002; Lee et al., Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p.92); and perfluorochemical emulsions, such as FC-43. Takahashi et al., J. Pharm. Pharmacol., 1988, 40, 252を参照されたい）。

【０６２２】

浸透促進剤としての役割を果たす様々な脂肪酸およびその誘導体としては、例えば、オレイン酸、ラウリン酸、カプリン酸（ｎ－デカン酸）、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、リノール酸、リノレン酸、ジカプロエート、トリカプロエート、モノオレイン（１－モノオレオイル－ｒａｃ－グリセロール）、ジラウリン、カプリル酸、アラキドン酸、グリセロール１－モノカプロエート、１－ドデシルアザシクロヘプタナ－２－オン、アシルカルニチン、アシルコリン、それらのＣ１～２０アルキルエステル（例えば、メチル、イソプロピル、およびｔ－ブチル）、ならびにそれらのモノ－およびジ－グリセリド（すなわち、オレエート、ラウレート、カプロエート、ミリステート、パルミテート、ステアレート、リノレエートなど）が挙げられる（例えば、Touitou, E., et al. Enhancement in Drug Delivery, CRC Press, Danvers, MA, 2006; Lee et al., Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p.92; Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33; El Hariri et al., J. Pharm. Pharmacol., 1992, 44, 651-654を参照されたい）。

【０６２３】

胆汁の生理的役割としては、脂質および脂溶性ビタミンの分散および吸収の促進が挙げられる（例えば、Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002; Brunton, Chapter 38 in: Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th Ed., Hardman et al. Eds., McGraw-Hill, New York, 1996, pp. 934-935を参照されたい）。様々な天然の胆汁塩、およびそれらの合成誘導体が、浸透促進剤としての役割を果たす。したがって、用語「胆汁塩」は、胆汁の天然に存在する成分の全て、ならびにそれらの合成誘導体の全てを包含する。好適な胆汁塩としては、例えば、コール酸（またはその薬学的に許容されるナトリウム塩、コール酸ナトリウム）、デヒドロコール酸（デヒドロコール酸ナトリウム）、デオキシコール酸（デオキシコール酸ナトリウム）、グルコール酸（グルコール酸ナトリウム）、グリコール酸（グリココール酸ナトリウム）、グリコデオキシコール酸（グリコデオキシコール酸ナトリウム）、タウロコール酸（タウロコール酸ナトリウム）、タウロデオキシコール酸（タウロデオキシコール酸ナトリウム）、ケノデオキシコール酸（ケノデオキシコール酸ナトリウム）、ウルソデオキシコール酸（ＵＤＣＡ）、タウロ－２４，２５－ジヒドロ－フシジン酸ナトリウム（ＳＴＤＨＦ）、グリコジヒドロフシジン酸ナトリウム、およびポリオキシエチレン－９－ラウリルエーテル（ＰＯＥ）が挙げられる（例えば、Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002; Lee et al., Critic

al Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, page 92; Swinyard, Chapter 39 In: Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1990, pages 782-783; Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33; Yamamoto et al., J. Pharm. Exp. Ther., 1992, 263, 25; Yamashita et al., J. Pharm. Sci., 1990, 79, 579-583を参照されたい）。

【０６２４】

キレート化剤は、本開示に関連して使用される場合、金属イオンとの複合体を形成することによって溶液から金属イオンを除去し、結果として、粘膜を通るＲＮＡｉ剤の吸収を高める化合物として定義することができる。本開示における浸透促進剤としての使用に関して、ほとんどの特徴的なＤＮＡヌクレアーゼは、触媒作用のために二価金属イオンを必要とし、結果として、キレート化剤によって阻害されるため、キレート化剤は、ＤＮａｓｅ阻害剤としても機能するさらなる利点を有する（Jarrett, J. Chromatogr., 1993, 618, 315-339Jarrett, J. Chromatogr., 1993, 618, 315-339）。好適なキレート化剤としては、これらに限定されるわけではないが、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム（ＥＤＴＡ）、クエン酸、サリチレート（例えば、サリチル酸ナトリウム、５－メトキシサリチレート、およびホモバニレート（ｈｏｍｏｖａｎｉｌａｔｅ））、コラーゲンのＮ－アシル誘導体、ラウレス－９、およびβ－ジケトンのＮ－アミノアシル誘導体（エナミン）が挙げられる（例えば、Katdare, A. et al., Excipient development for pharmaceutical, biotechnology, and drug delivery, CRC Press, Danvers, MA, 2006; Lee et al., Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, page 92; Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33; Buur et al., J. Control Rel., 1990, 14, 43-51を参照されたい）。

【０６２５】

本明細書において使用される場合、非キレート化非界面活性剤である浸透促進化合物は、キレート化剤または界面活性剤としてはわずかな活性しか示さないが、それにもかかわらず消化器粘膜を通してのＲＮＡｉ剤の吸収を高める化合物として定義することができる（例えば、Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33を参照されたい）。このクラスの浸透促進剤としては、例えば、不飽和環状尿素、１－アルキル－および１－アルケニルアザシクロ－アルカノン誘導体（Lee et al., Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, page 92）；ならびに非ステロイド性抗炎症剤、例えば、ジクロフェナクナトリウム、インドメタシン、およびフェニルブタゾンなどが挙げられる（Yamashita et al., J. Pharm. Pharmacol., 1987, 39, 621-626）。

【０６２６】

細胞レベルでのＲＮＡｉ剤の取り込みを増強する薬剤も、本開示の医薬組成物および他の組成物に加えることができる。例えば、カチオン性脂質、例えば、リポフェクチンなど（Junichi et al, U.S. Pat. No. 5,705,188）、カチオン性グリセロール誘導体、およびポリカチオン性分子、例えば、ポリリジンなど（ＷＯ９７／３０７３１）も、ｄｓＲＮＡの細胞取り込みを増強することが知られている。

【０６２７】

投与された核酸の浸透を高めるために、他の薬剤、例えば、グリコール、例えば、エチレングリコールおよびプロピレングリコールなど、ピロール、例えば、２－ピロールなど、アゾン、ならびにテルペン、例えば、リモネンおよびメントンなどを用いることができる。

【０６２８】

ｖｉ．賦形剤

担体化合物とは対照的に、「医薬担体」または「賦形剤」は、１つまたは複数の核酸を動物にデリバリーするための、薬学的に許容される溶媒、懸濁剤、または任意の他の薬理

学的に不活性なビヒクルである。賦形剤は、液体または固体であり得、ならびに、核酸および所定の医薬組成物お他の成分を組み合わせたときに、所望の体積、稠度などを提供するように計画された投与の様式を念頭において選択される。典型的な医薬担体としては、これらに限定されるわけではないが、結着剤（例えば、予めゼラチン化されたウモロコシデンプン、ポリビニルピロリドン、またはヒドロキシプロピルメチルセルロースなど）；充填剤（例えば、ラクトースおよび他の糖、微結晶性セルロース、ペクチン、ゼラチン、硫酸カルシウム、エチルセルロース、ポリアクリレート、またはリン酸水素カルシウムなど）；潤滑剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルク、シリカ、コロイド状二酸化ケイ素、ステアリン酸、金属ステアリン酸塩、硬化植物油、コーンスターチ、ポリエチレングリコール、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウムなど）；崩壊剤（例えば、デンプン、デンプングリコール酸ナトリウムなど）；および湿潤剤（例えば、ラウリル硫酸ナトリウムなど）が挙げられる。

【０６２９】

核酸と有害に反応しない、非経静脈投与にとって好適な薬学的に許容される有機または無機賦形剤も、本開示の組成物を製剤化するために使用することができる。好適な薬学的に許容される担体としては、これらに限定されるわけではないが、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、アミロース、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、ポリビニルピロリドンなどが挙げられる。

【０６３０】

核酸の局所投与用の製剤は、滅菌および非滅菌水溶液、アルコールなどの一般的な溶媒における非水溶液、または液体もしくは固体油基剤における核酸の溶液を含むことができる。溶液は、緩衝剤、希釈剤、および他の好適な添加剤も含有することができる。核酸と有害に反応しない、非経静脈投与にとって好適な薬学的に許容される有機または無機賦形剤を、使用することができる。

【０６３１】

好適な薬学的に許容される賦形剤としては、これらに限定されるわけではないが、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、アミロース、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、ポリビニルピロリドンなどが挙げられる。

【０６３２】

ｖｉｉ．他の成分

本開示の組成物は、さらに、医薬組成物中に従来的に見出される他の補助成分を、確立されたそれらの使用レベルにおいて含有することができる。したがって、例えば、組成物は、追加の適合性の、薬学的に活性な材料、例えば、止痒剤、収斂剤、局部麻酔薬、もしくは抗炎症剤などを含有することができ、または、本開示の組成物の様々な剤形を物理的に製剤化する際に有用な追加の材料、例えば、染料、矯臭剤、防腐剤、酸化防止剤、乳白剤、増粘剤、および安定化剤などを含有することができる。ただし、そのような材料は、添加したときに、本開示の組成物の成分の生物活性を過度に妨害すべきではない。製剤は、滅菌することができ、所望の場合は、製剤の核酸と有害に相互作用しない助剤、例えば、潤滑剤、防腐剤、安定化剤、湿潤剤、乳化剤、浸透圧に影響を及ぼすための塩、緩衝剤、着色剤、風味剤、または芳香族物質などと混合することができる。

【０６３３】

水性懸濁液は、懸濁液の粘度を増加する物質、例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトール、またはデキストランなどを含有することができる。懸濁液は、安定化剤も含有することができる。

【０６３４】

一部の実施形態において、本開示において特徴とされる医薬組成物は、（ａ）１つまたは複数のＲＮＡｉ剤、および（ｂ）非ＲＮＡｉメカニズムによって機能し、ＡＢＬＩＭ３関連障害、例えば、ＰＴＳＤまたは加齢性記憶喪失の処置に有用である、１つまたは複数

の薬剤を含む。そのような薬剤の例は、本明細書の他の箇所で提供される。

【０６３５】

そのような化合物の毒性および治療有効性は、例えば、５０％致死量（集団の５０％に致死的である用量）およびＥＤ５０（集団の５０％において治療的有効な用量）を判定するために、細胞培養物または実験動物における標準的な薬学的手法によって判定することができる。毒性と治療有効性との間の用量比は、治療指数であり、ＬＤ５０／ＥＤ５０の比として示すことができる。高い治療指数を示す化合物が好ましい。

【０６３６】

細胞培養アッセイおよび動物研究から得たデータは、ヒトにおける使用のために様々な投薬量を製剤化する際に使用することができる。本開示における本明細書において特徴とされる組成物の投薬量は、概して、わずかな毒性かまたは毒性が全くないＥＤ５０を含む循環濃度の範囲内である。投薬量は、用いられる剤形および利用される投与経路に応じて、この範囲内で変更することができる。本開示において特徴とされる方法で使用される任意の化合物に対して、最初に、細胞培養アッセイから治療有効用量を見積もることができる。細胞培養において決定されたＩＣ５０（すなわち、症状の１／２最大阻害を達成する試験化合物の濃度）を含む、化合物、または、適切な場合には、標的配列のポリペプチド産物の循環血漿濃度範囲を達成する（例えば、ポリペプチドの濃度減少を達成する）ように、用量を動物モデルにおいて製剤化することができる。そのような情報は、ヒトにおける有用な用量をより正確に判定するために使用することができる。血漿中のレベルは、例えば、高速液体クロマトグラフィーによって、測定することができる。

【０６３７】

それらの投与に加えて、上記において説明されるように、本開示において特徴とされるＲＮＡｉ剤は、ヌクレオチドリピート発現によって媒介される病理過程の処置に有効な他の既知の薬剤と併用して投与することができる。いずれにしても、投与する医師は、当技術分野で公知であるかまたは本明細書において説明された、有効性の標準的尺度を使用して観察された結果に基づいて、ＲＮＡｉ剤投与の量およびタイミングを調整することができる。

【０６３８】

ＶＩＩ．キット

ある特定の態様では、本開示は、ｓｉＲＮＡ化合物、例えば、二本鎖ｓｉＲＮＡ化合物、またはｓｓｉＲＮＡ化合物（例えば、前駆体、例えば、ｓｓｉＲＮＡ化合物へとプロセシングすることができるより大きなｓｉＲＮＡ化合物、またはｓｉＲＮＡ化合物、例えば、二本鎖ｓｉＲＮＡ化合物、もしくはｓｓｉＲＮＡ化合物をコードするＤＮＡ、またはその前駆体）の医薬製剤を収容する好適な容器を含むキットを提供する。

【０６３９】

そのようなキットは、１つまたは複数のｄｓＲＮＡ剤と、使用のための使用説明書、例えば、予防有効量または治療有効量のｄｓＲＮＡ剤を投与するための使用説明書とを含む。ｄｓＲＮＡ剤は、バイアル瓶または予め充填された注射器にあり得る。適宜、キットは、ｄｓＲＮＡ剤を投与するための手段（例えば、予め充填された注射器または髄腔内ポンプなどの注入デバイス）、またはＣ３の阻害を測定するための手段（例えば、ＡＢＬＩＭ３　ｍＲＮＡ、ＡＢＬＩＭ３タンパク質、および／またはＡＢＬＩＭ３活性の阻害を測定するための手段）をさらに含んでもよい。ＡＢＬＩＭ３の阻害を測定するためのそのような手段は、対象から試料、例えば、ＣＳＦおよび／または血漿試料を得るための手段を含み得る。適宜、本発明のキットは、治療有効量または予防有効量を判定するための手段をさらに含んでもよい。

【０６４０】

ある特定の実施形態において、医薬製剤の個々の成分は、１つの容器において提供され得る。あるいは、医薬製剤の成分を別々に２つ以上の容器において、例えば、ｓｉＲＮＡ化合物調製物のための１つの容器と、担体化合物のための少なくとも別の容器において提供することは、望ましくあり得る。キットは、単一の箱における１つまたは複数の容器な

ど、多数の異なる構成においてパッケージしてもよい。異なる成分は、例えば、キットと共に提供される使用説明書に従って、組み合わせることができる。成分は、医薬組成物を調製および投与するために、本明細書において説明される方法に従って組み合わせることができる。キットは、デリバリーデバイスも含むことができる。

【０６４１】

ＶＩＩＩ．ＡＢＬＩＭ３発現を阻害する方法

本開示はまた、細胞においてＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現を阻害する方法を提供する。本方法は、細胞を、細胞におけるＡＢＬＩＭ３の発現および／または活性を阻害するのに有効な量のＲＮＡｉ剤、例えば、二本鎖ＲＮＡｉ剤と接触させること、それによって、細胞におけるＡＢＬＩＭ３の発現および／または活性を阻害することを含む。本開示のある特定の実施形態において、ＡＢＬＩＭ３の発現および／または活性は、ＣＮＳ（例えば、脳）細胞において優先的に少なくとも３０％阻害される。特定の実施形態において、ＡＢＬＩＭ３の発現および／または活性は、少なくとも３０％阻害される。

【０６４２】

細胞の、ＲＮＡｉ剤、例えば、二本鎖ＲＮＡｉ剤との接触は、インビトロまたはインビボで行うことができる。インビボで細胞を、ＲＮＡｉ剤と接触させることは、対象、例えば、ヒト対象内の細胞または細胞の群を、ＲＮＡｉ剤と接触させることを含む。細胞を接触させるインビトロおよびインビボ法の組合せも可能である。

【０６４３】

細胞を接触させることは、上記で論じたように直接的である場合も間接的である場合もある。さらに、細胞を接触させることは、本明細書に記載される、または当技術分野で公知の任意のリガンドを含む標的化リガンドを介して達成できる。一部の実施形態において、標的化リガンドは、炭水化物部分、例えば、ＧａｌＮＡｃリガンドまたはＲＮＡｉ剤を目的の部位に向ける任意の他のリガンドである。

【０６４４】

「阻害すること」という用語は、本明細書において使用される場合、「低減すること」、「サイレンシングすること」、「下方制御すること」、「抑制すること」および他の同様の用語と同義的に使用され、阻害の任意のレベルを含む。ある特定の実施形態において、阻害のレベル、例えば、本開示のＲＮＡｉ剤についての阻害のレベルは、例えば、細胞培養物中の細胞が、リポフェクタミン（商標）媒介性トランスフェクションによってトランスフェクトされる細胞培養条件において、１０ｎＭ以下、または１ｎＭ以下などの細胞の近傍における濃度で評価できる。所与のＲＮＡｉ剤のノックダウンは、細胞培養物において前処置されたレベル対細胞培養物において後処置されたレベルの比較によって決定でき、また、スクランブルされたまたは他の形態の対照ＲＮＡｉ剤を用いて並行して処置された細胞に対して比較してもよい。例えば、少なくとも約３０％の細胞培養物におけるノックダウンは、それによって、「阻害すること」または「低減すること」、「下方制御すること」または「抑制すること」などが生じたことを示すと同定され得る。標的化されたｍＲＮＡまたはコードされるタンパク質レベル（および従って、本開示のＲＮＡｉ剤によって引き起こされる「阻害すること」などの程度）の評価も、当技術分野において記載されるような適切に制御された条件下で本開示のＲＮＡｉ剤のインビボ系において評価できるということは明確に企図される。

【０６４５】

語句「ＡＢＬＩＭ３を阻害すること」、「ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現を阻害すること」、または「ＡＢＬＩＭ３の発現を阻害すること」は、本明細書において使用される場合、任意のＡＢＬＩＭ３遺伝子（例えば、マウスＡＢＬＩＭ３遺伝子、ラットＡＢＬＩＭ３遺伝子、サルＡＢＬＩＭ３遺伝子、またはヒトＡＢＬＩＭ３遺伝子など）、ならびにＡＢＬＩＭ３タンパク質をコードするＡＢＬＩＭ３遺伝子の変異体または突然変異体の発現の阻害を含む。したがって、ＡＢＬＩＭ３遺伝子は、野生型ＡＢＬＩＭ３遺伝子、突然変異体ＡＢＬＩＭ３遺伝子、または遺伝子操作された細胞、細胞の群、もしくは生物との関連でのトランスジェニックＡＢＬＩＭ３遺伝子であり得る。

【０６４６】
「ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現を阻害すること」は、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の任意のレベルの阻害、例えば、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現の少なくとも部分的抑制、例えば、少なくとも３０％の阻害を含む。ある特定の実施形態において、阻害は、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９９％である。ＡＢＬＩＭ３の阻害は、本明細書における実施例に提供されるような、例えば、ＢＥ（２）－Ｃ細胞および１０ｎＭの濃度のＲＮＡ剤を用いたインビトロアッセイならびにＰＣＲアッセイを使用して測定することができ、本発明の開示の範囲内であることが企図される。一部の実施形態において、ＡＢＬＩＭ３の阻害は、一次マウス肝細胞を用いたインビトロアッセイを使用して測定することができる。別の実施形態において、ＡＢＬＩＭ３の阻害は、Ｃｏｓ－７（Ｄｕａｌ－Ｌｕｃｉｆｅｒａｓｅ　ｐｓｉＣＨＥＣＫ２ベクター）を用いたインビトロアッセイを使用して測定することができる。さらに別の実施形態において、ＡＢＬＩＭ３の阻害は、ＢＥ（２）－Ｃ細胞を用いたインビトロアッセイを使用して測定することができる。一部の実施形態において、ＡＢＬＩＭ３の阻害は、Ｎｅｕｒｏ－２ａ細胞を用いたインビトロアッセイを使用して測定することができる。
【０６４７】
ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現は、ＡＢＬＩＭ３遺伝子発現に関連する任意の変数のレベル、例えば、ＡＢＬＩＭ３　ｍＲＮＡのレベル（例えば、センスｍＲＮＡ、アンチセンスｍＲＮＡ、および／または総ＡＢＬＩＭ３　ｍＲＮＡ）またはＡＢＬＩＭ３タンパク質のレベル（例えば、総ＡＢＬＩＭ３タンパク質および／または野生型ＡＢＬＩＭ３タンパク質）に基づいて評価されてもよい。
【０６４８】
阻害は、対照レベルと比較した、これらの変数のうち１つまたは複数の絶対または相対レベルの低下によって評価できる。対照レベルは、当技術分野で利用される任意の種類の対照レベル、例えば、投与前ベースラインレベルまたは未処置であるか、もしくは対照（例えば、バッファーのみの対照または不活性の薬剤対照など）を用いて処置された同様の対象、細胞もしくは試料から決定されるレベルであり得る。
【０６４９】
例えば、本開示の方法の一部の実施形態において、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現は、少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、もしくは９５％阻害されるか、またはアッセイの検出レベル未満まで阻害される。ある特定の実施形態において、方法は、例えば、ＡＢＬＩＭ３の発現を低減する本開示の薬剤を用いる対象の処置後の臨床的に関連するアウトカムによって実証されるような、ＡＢＬＩＭ３の発現の臨床的に関連する阻害を含む。
【０６５０】
ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現の阻害は、第１の細胞または細胞の群と実質的に同一であるが、そのように処置されていない第２の細胞または細胞の群（ＲＮＡｉ剤で処置されていない、または目的の遺伝子に標的化されるＲＮＡｉ剤を用いて処置されていない対照細胞（複数可））と比較して、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現が阻害されるように、ＡＢＬＩＭ３遺伝子が転写され、処置（例えば、細胞（単数または複数）を本開示のＲＮＡｉ剤と接触させることによって、または本開示のＲＮＡｉ剤を、細胞が存在しているもしくは存在していた対象に投与することによって）されている第１の細胞または細胞の群（このような細胞は、例えば、対象に由来する試料中に存在し得る）によって発現されるｍＲＮＡの量の低減によって示される場合もある。阻害の程度は、以下によって表すことができる：
【０６５１】
【数２】

$$\frac{(\text{対照細胞中のmRNA})-(\text{処置細胞中のmRNA})}{(\text{対照細胞中のmRNA})}\bullet 100\%$$

【０６５２】
他の実施形態において、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現の阻害は、ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現に機能的に関連するパラメータ、例えばＡＢＬＩＭ３タンパク質の発現の低減の観点で評価してよい。ＡＢＬＩＭ３遺伝子のサイレンシングは、発現コンストラクトから内因性または異種性のＡＢＬＩＭ３を発現する任意の細胞において、当技術で既知の任意のアッセイによって決定してよい。

【０６５３】
ＡＢＬＩＭ３タンパク質の発現の阻害は、細胞または細胞の群によって発現されるＡＢＬＩＭ３タンパク質のレベル（例えば、対象に由来する試料中に発現されるタンパク質のレベル）（または機能性パラメータ、例えば、活性）の低減によって明らかにすることができる。上記で説明されたように、ｍＲＮＡ抑制の評価のために、処置された細胞または細胞の群におけるタンパク質発現レベルの阻害を、対照細胞または細胞の群におけるタンパク質のレベルのパーセンテージとして同様に表すことができる。一部の実施形態において、語句「ＡＢＬＩＭ３を阻害すること」は、ＡＢＬＩＭ３の活性の阻害、例えば、ＡＢＬＩＭ３活性の少なくとも部分的抑制、例えば、少なくとも３０％の阻害も指すことができる。ある特定の実施形態において、ＡＢＬＩＭ３活性の阻害は、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９９％である。ＡＢＬＩＭ３活性は、インビトロアッセイ、例えば、アクチン結合アッセイ、例えば、（Srivastava et al., 2008, J Vis Exp, 13:690）に記載されるアッセイを使用して測定することができる。

【０６５４】
ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現の阻害を評価するために使用できる対照細胞または細胞の群には、本開示のＲＮＡｉ剤とまだ接触していない細胞または細胞の群が含まれる。例えば、対照細胞または細胞の群は、ＲＮＡｉ剤を用いる対照の処置の前の個々の対象（例えば、ヒトまたは動物対象）に由来し得る。

【０６５５】
細胞または細胞の群によって発現されたＡＢＬＩＭ３　ｍＲＮＡのレベルは、ｍＲＮＡ発現を評価するための当技術分野で公知の任意の方法を使用して決定できる。一実施形態において、試料中のＡＢＬＩＭ３の発現のレベルは、転写されたポリヌクレオチドまたはその一部、例えば、ＡＢＬＩＭ３遺伝子のｍＲＮＡを検出することによって決定される。ＲＮＡは、例えば、酸フェノール／グアニジンイソチオシアネート抽出（ＲＮＡｚｏｌ Ｂ；Ｂｉｏｇｅｎｅｓｉｓ）、ＲＮｅａｓｙ（商標）ＲＮＡ調製キット（Ｑｉａｇｅｎ（登録商標））またはＰＡＸｇｅｎｅ（ＰｒｅＡｎａｌｙｔｉｘ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）を使用することを含む、ＲＮＡ抽出技術を使用して細胞から抽出されてもよい。リボ核酸ハイブリダイゼーションを利用する通常のアッセイ形式には、核ランオンアッセイ、ＲＴ－ＰＣＲ、ＲＮアーゼ保護アッセイ、ノーザンブロッティング、インサイツハイブリダイゼーションおよびマイクロアレイ分析が含まれる。鎖特異的なＡＢＬＩＭ３　ｍＲＮＡは、例えば上記Jiang, et al.、上記Lagier-Tourenne, et al.、および上記Jiang, et al.に記載されている定量的ＲＴ－ＰＣＲおよび／または液滴デジタルＰＣＲ法を使用して検出してよい。循環するＡＢＬＩＭ３　ｍＲＮＡは、ＷＯ２０１２／１７７９０６に記載されている方法を使用して検出してよく、その全内容はこれにより参照により本明細書に組み込まれる。

【０６５６】
一部の実施形態において、ＡＢＬＩＭ３の発現のレベルは、核酸プローブを使用して決

定される。「プローブ」という用語は、本明細書において使用される場合、特定のＡＢＬＩＭ３核酸またはタンパク質もしくはその断片に選択的に結合可能である任意の分子を指す。プローブは、当業者によって合成できる、または適切な生物学的調製物から誘導できる。プローブは、標識されるように具体的に設計できる。プローブとして利用できる分子の例として、それだけには限らないが、ＲＮＡ、ＤＮＡ、タンパク質、抗体および有機分子が挙げられる。

【０６５７】

単離されたｍＲＮＡは、それだけには限らないが、サザンまたはノーザン分析、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）分析およびプローブアレイを含む、ハイブリダイゼーションまたは増幅アッセイにおいて使用できる。ｍＲＮＡレベルを決定する１つの方法は、単離されたｍＲＮＡを、ＡＢＬＩＭ３　ｍＲＮＡとハイブリダイズできる核酸分子（プローブ）と接触させることを含む。一実施形態において、例えば、単離されたｍＲＮＡをアガロースゲル上に流すことおよびｍＲＮＡをゲルからメンブレン、例えば、ニトロセルロースにトランスファーすることによって、ｍＲＮＡを固体表面上に固定化し、プローブと接触させる。代替実施形態において、プローブ（複数可）を固体表面上に固定化し、例えば、Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ（登録商標）遺伝子チップアレイにおいてｍＲＮＡをプローブ（複数可）と接触させる。当業者ならば、公知のｍＲＮＡ検出方法を、ＡＢＬＩＭ３　ｍＲＮＡのレベルの決定において使用するために容易に適応させることができる。

【０６５８】

試料中のＡＢＬＩＭ３の発現のレベルを決定するための代替方法は、例えば、ＲＴ－ＰＣＲ（Ｍｕｌｌｉｓ、１９８７年、米国特許第４，６８３，２０２号に示された実験の実施形態）、リガーゼ連鎖反応［Barany (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:189-193］、自家持続配列複製法［Guatelli et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1874-1878］、転写増幅システム［Kwoh et al. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:1173-1177］、Ｑ－ベータレプリカーゼ［Lizardi et al. (1988) Bio/Technology 6:1197］、ローリングサークル複製（Lizardi et al.、米国特許第５，８５４，０３３号）または任意のその他の核酸増幅法による、例えば、試料中のｍＲＮＡの核酸増幅または逆転写酵素（ｃＤＮＡを調製するための）のプロセスと、それに続く、当業者に公知の技術を使用する増幅された分子の検出を含む。これらの検出スキームは、このような分子が、極めて少数で存在する場合には、核酸分子の検出のために特に有用である。本開示の特定の態様では、ＡＢＬＩＭ３の発現のレベルは、定量的蛍光発生的ＲＴ－ＰＣＲ（すなわち、ＴａｑＭａｎ（商標）システム）によって、Ｄｕａｌ－Ｇｌｏ（登録商標）ルシフェラーゼアッセイによって、またはＡＢＬＩＭ３発現もしくはｍＲＮＡレベルの測定のための他の技術分野によって認識された方法によって決定される。

【０６５９】

ＡＢＬＩＭ３　ｍＲＮＡの発現レベルは、メンブレンブロット（例えば、ノーザン、サザン、ドットなどといったハイブリダイゼーション分析において使用される）またはマイクロウェル、試料チューブ、ゲル、ビーズまたはファイバー（または結合している核酸を含む任意の固相支持体）を使用してモニタリングできる。参照によって本明細書に組み込まれる、米国特許第５，７７０，７２２号、同５，８７４，２１９号、同５，７４４，３０５号、同５，６７７，１９５号および同５，４４５，９３４号を参照されたい。ＡＢＬＩＭ３発現レベルの決定はまた、溶液中で核酸プローブを使用することを含み得る。

【０６６０】

一部の実施形態において、ｍＲＮＡ発現のレベルは、分岐ＤＮＡ（ｂＤＮＡ）アッセイまたはリアルタイムＰＣＲ（ｑＰＣＲ）を使用して評価される。このＰＣＲ方法の使用は、本明細書において示される実施例において記載され、例示されている。このような方法はまた、ＡＢＬＩＭ３核酸の検出のために使用できる。

【０６６１】

ＡＢＬＩＭ３タンパク質発現のレベルは、タンパク質レベルの測定のための当技術分野で公知の任意の方法を使用して決定できる。このような方法には、例えば、電気泳動、キ

ャピラリー電気泳動、高性能液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）、薄層クロマトグラフィー（ＴＬＣ）、超拡散クロマトグラフィー、流体またはゲル沈降素反応、吸収分光法、比色アッセイ、分光光度的アッセイ、フローサイトメトリー、免疫拡散法（一元または二元）、免疫電気泳動、ウェスタンブロッティング、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）、酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）、免疫蛍光アッセイ、電気化学発光アッセイなどが含まれる。このようなアッセイはまた、ＡＢＬＩＭ３タンパク質の存在または複製を示すタンパク質の検出のために使用することができる。一部の実施形態において、ＡＢＬＩＭ３関連疾患、例えば、ＰＴＳＤまたは加齢性記憶喪失の処置における本開示の方法の有効性は、ＡＢＬＩＭ３　ｍＲＮＡレベルの減少によって（例えば、ＡＢＬＩＭ３レベルについてのＣＳＦ試料および／もしくは血漿試料の評価によって、脳生検、または別の方法によって）評価される。

【０６６２】

本開示の方法の一部の実施形態において、ＲＮＡｉ剤は、対象内の特定の部位にＲＮＡｉ剤が送達されるように対象に投与される。ＡＢＬＩＭ３の発現の阻害は、対象内の特定の部位、例えば、ＣＮＳ細胞から得られた試料中のＡＢＬＩＭ３　ｍＲＮＡ（例えば、センスｍＲＮＡ、アンチセンスｍＲＮＡ、総ＡＢＬＩＭ３　ｍＲＮＡ）および／またはＡＢＬＩＭ３タンパク質（例えば、総ＡＢＬＩＭ３タンパク質、野生型ＡＢＬＩＭ３タンパク質）のレベルまたはレベルの変化の測定値を使用して評価されてもよい。ある特定の実施形態において、方法は、例えば、ＡＢＬＩＭ３の発現を低減するための薬剤での対象の処置後の臨床的に関連するアウトカム、例えば、対象におけるものなどによって実証されるような、臨床的に関連するＡＢＬＩＭ３の発現の阻害を含む。ある特定の実施形態において、臨床的に関連するＡＢＬＩＭ３の発現の阻害は、改善された記憶；不安症、うつ病、恐怖、不穏、敵意、および／もしくは苦痛の減少；悪夢、侵入思考、および／もしくはフラッシュバックの数の減少；ならびに／または疼痛、発汗、悪心、および震えを含めた身体症状の低減によって実証される。

【０６６３】

本明細書において使用される場合、分析物のレベルを検出することまたは決定することという用語は、材料、例えば、タンパク質、ＲＮＡが存在するか否かを決定する工程を実施することを意味すると理解される。本明細書において使用される場合、検出するまたは決定する方法は、使用される方法の検出のレベルを下回る分析物レベルの検出または決定を含む。

【０６６４】

ＩＸ．ＡＢＬＩＭ３関連疾患を処置または予防する方法

本開示はまた、細胞においてＡＢＬＩＭ３発現を低減または阻害するために本開示のＲＮＡｉ剤または本開示のＲＮＡｉ剤を含有する組成物を使用する方法を提供する。方法は、細胞を本開示のｄｓＲＮＡと接触させることおよび細胞をＡＢＬＩＭ３遺伝子のｍＲＮＡ転写物の分解を得るのに十分な時間の間維持し、それによって、細胞においてＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現を阻害することを含む。

【０６６５】

遺伝子発現の低減は、当技術分野で公知の任意の方法によって評価することができる。例えば、ＡＢＬＩＭ３の発現の低減は、当業者に常用される方法、例えば、ノーザンブロッティング、ｑＲＴ－ＰＣＲを使用してＡＢＬＩＭ３のｍＲＮＡ発現レベルを決定することによって；当業者に常用される方法、例えば、ウェスタンブロッティング、免疫学的技術を使用してＡＢＬＩＭ３のタンパク質レベルを決定することによって、決定してもよい。

【０６６６】

本開示の方法では、細胞をインビトロまたはインビボで接触させることができる、すなわち、細胞は、対象内であり得る。

【０６６７】

本開示の方法を使用する処置のために好適な細胞は、ＡＢＬＩＭ３遺伝子を発現する任

意の細胞であってよい。本開示の方法における使用にとって適した細胞は、哺乳動物細胞、例えば、霊長類細胞（ヒト細胞または非ヒト霊長類細胞、例えば、サル細胞またはチンパンジー細胞など）、非霊長類細胞（ラット細胞またはマウス細胞など）であり得る。一実施形態において、細胞は、ヒト細胞、例えば、ヒトＣＮＳ細胞である。

【０６６８】

ＡＢＬＩＭ３の発現（例えば、センスｍＲＮＡ、アンチセンスｍＲＮＡ、総ＡＢＬＩＭ３　ｍＲＮＡ、総ＡＢＬＩＭ３タンパク質によって評価される）は、細胞において少なくとも３０％、４０％、好ましくは少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、もしくは９５％、９９％またはアッセイの検出レベル未満にまで阻害される。

【０６６９】

本開示のインビボ法は、対象に、ＲＮＡｉ剤を含有する組成物を投与することを含むことができ、ＲＮＡｉ剤は、処置されるべき哺乳動物のＡＢＬＩＭ３遺伝子のＲＮＡ転写物の少なくとも一部と相補的であるヌクレオチド配列を含む。処置されるべき生物が哺乳動物、例えば、ヒトである場合には、組成物は、それだけには限らないが、経口、腹腔内または頭蓋内（例えば、脳室内、実質内および髄腔内）、静脈内の、筋肉内の、硝子体内、皮下、経皮、気道（エアロゾル）、鼻腔、直腸および局所（頬側および舌下を含む）投与を含む非経口経路を含む、当技術分野で公知の任意の手段によって投与され得る。ある特定の実施形態において、組成物は、静脈内注入または注射によって投与される。ある特定の実施形態において、組成物は、皮下注射によって投与される。ある特定の実施形態において、組成物は、髄腔内注射によって投与される。

【０６７０】

一部の実施形態において、投与は、デポー注射によってである。デポー注射は、長時間にわたって一貫した方法でＲＮＡｉ剤を放出し得る。したがって、デポー注射は、所望の効果、例えば、所望のＡＢＬＩＭ３の阻害または治療的もしくは予防的効果を得るために必要とされる投薬の頻度を低減し得る。デポー注射はまた、より一貫した血清濃度を提供し得る。デポー注射は、皮下注射または筋肉内注射を含み得る。例えば、デポー注射は、皮下注射であってもよい。

【０６７１】

一部の実施形態において、投与は、ポンプによってである。ポンプは、外部ポンプまたは外科的に埋め込まれたポンプであり得る。ある特定の実施形態において、ポンプは、皮下に埋め込まれた浸透圧ポンプである。他の実施形態において、ポンプは、注入ポンプである。注入ポンプは、頭蓋内、静脈内、皮下、動脈性または硬膜外注入のために使用され得る。一実施形態において、注入ポンプは、皮下注入ポンプである。他の実施形態において、ポンプは、ＲＮＡｉ剤をＣＮＳに送達する外科的に埋め込まれたポンプである。

【０６７２】

投与様式は、局所処置が望まれるか、または全身処置が望まれるかに基づいて、また処置されるべき領域に基づいて選択できる。投与の経路および部位は、標的化を増強するように選択できる。

【０６７３】

一態様では、本開示はまた、哺乳動物においてＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現を阻害する方法を提供する。本方法は、哺乳動物に、哺乳動物の細胞におけるＡＢＬＩＭ３遺伝子を標的化するｄｓＲＮＡを含む組成物を投与すること、それによって細胞におけるＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現を阻害することを含む。遺伝子発現の低減は、当技術分野で公知の任意の方法によって、また本明細書に記載される方法、例えば、ｑＲＴ－ＰＣＲによって評価できる。タンパク質産生の低減は、当技術分野で公知の任意の方法によって、また本明細書に記載される方法、例えば、ＥＬＩＳＡによって評価できる。一実施形態において、ＣＮＳ生検試料または脳脊髄液（ＣＳＦ）試料は、ＡＢＬＩＭ３遺伝子またはタンパク質発現の（またはしたがって、プロキシの）低減をモニタリングするための組織材料として働く。

【０６７４】

本開示は、それを必要とする対象の処置の方法をさらに提供する。本開示の処置方法は、対象、例えば、ＡＢＬＩＭ３発現の阻害が有益であろう対象、例えば、ＰＴＳＤまたは加齢性記憶喪失を有する対象に、ＡＢＬＩＭ３遺伝子を標的化するＲＮＡｉ剤またはＡＢＬＩＭ３遺伝子を標的化するＲＮＡｉ剤を含む医薬組成物の治療有効量で、本開示のＲＮＡｉ剤を投与することを含む。

【０６７５】

さらに、本発明の開示は、対象におけるＡＢＬＩＭ３関連疾患または状態を防止する、処置する、またはその進行を阻害する方法を提供する。本方法は、対象に、本明細書に提供される治療有効量のＲＮＡｉ剤のいずれか、例えば、ｄｓＲＮＡ剤、または医薬組成物を投与すること、それによって対象におけるＡＢＬＩＭ３関連疾患または状態を防止する、処置する、またはその進行を阻害することを含む。

【０６７６】

本開示のＲＮＡｉ剤は、「遊離ＲＮＡｉ剤」として投与される場合がある。遊離ＲＮＡｉ剤は、医薬組成物の不在下で投与される。裸のＲＮＡｉ剤は、適した緩衝溶液中にある場合がある。緩衝溶液は、酢酸塩、クエン酸塩、プロラミン、炭酸塩またはリン鎖塩またはそれらの任意の組合せを含み得る。一実施形態において、緩衝溶液は、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）である。ＲＮＡｉ剤を含有する緩衝溶液のｐＨおよび浸透圧は、対象へ投与することに適しているように調整できる。

【０６７７】

あるいは、本開示のＲＮＡｉ剤は、医薬組成物、例えば、ｄｓＲＮＡリポソーム製剤として投与され得る。

【０６７８】

一実施形態において、対象はヒトである。ＡＢＬＩＭ３遺伝子発現の阻害が有益であろう対象としては、ＡＢＬＩＭ３関連疾患、例えば、ＰＴＳＤまたは加齢性記憶喪失を有するものが挙げられる。

【０６７９】

一実施形態において、ＡＢＬＩＭ３関連疾患は、外傷後ストレス障害（ＰＴＳＤ）である。ＰＴＳＤは、外傷性の、恐ろしい、または危険な出来事を経験または目撃することによって誘発される障害である。ＰＴＳＤを有する人は、重度の不安症、悪夢、制御不能な思考、およびフラッシュバックを経験することがあり、これらの症状は、数か月から数年続き、日常生活に支障を来すことがある。研究から、海馬－前頭前野－視床回路の機能である文脈処理（ｃｏｎｔｅｘｔｕａｌ　ｐｒｏｃｅｓｓｉｎｇ）の機能障害がＰＴＳＤの病態生理に寄与している可能性があることが示唆されているが（Liberzon and Abelson, 2017, Neuron, 92(1): 14-30）、ＰＴＳＤの分子メカニズムについてはほとんど知られていない。

【０６８０】

ＰＴＳＤの処置としては、認知療法、行動療法、および曝露療法などの療法、または精神薬理学処置、例えば、フルオキセチン（Ｐｒｏｚａｃ）、パロキセチン（Ｐａｘｉｌ）、セルトラリン（Ｚｏｌｏｆｔ）、ベンラファキシン（Ｅｆｆｅｘｏｒ）、抗うつ薬、モノアミンオキシダーゼ阻害剤（ＭＡＯＩ）、抗精神病薬もしくは第二世代抗精神病薬（ＳＧＡ）、β遮断薬、およびベンゾジアゼピンが挙げられる。しかし、心理学的療法への無応答は、５０％もの高さになることもあり、ＰＴＳＤについての精神薬理学処置の有効性は低い。

【０６８１】

一実施形態において、ＡＢＬＩＭ３関連疾患は、加齢性記憶喪失である。記憶の変化は加齢の間に自然に起こり、加齢性の認知変化（例えば、記憶喪失）は、頻繁に物をなくしたり置き間違えたりすること、頻繁に会話、約束、および出来事を忘れること、名前を覚えるのが難しいこと、会話についていくのが難しいこと、ならびに所望の言葉を思いつくのが難しいこととして現れることがある。経時的に、記憶は汎化され、記憶の詳細は失われる。経時的な記憶の精度および汎化ならびに詳細の喪失のメカニズムについてはほとん

ど知られていない。海馬が、海馬－皮質相互作用を通して、記憶の具体性の維持に重要な役割を果たしているという証拠がある。記憶は、海馬で、記憶保存（ｅｎｇｒａｍ－ｂｅａｒｉｎｇ）歯状回顆粒細胞と呼ばれる歯状回顆粒細胞において記銘されると思われている。

【０６８２】

Ｇｕｏらによる近年の研究から、学習時にＡＢＬＩＭ３のレベルが減少することが見出された（Guo, et al., 2018, Nat Med. 24(4):438-449）。ＡＢＬＩＭ３は、歯状回顆粒細胞（ｄｅｎｔａｔｅ ｇｒａｎｕａｌｅ ｃｅｌｌ）内で高度に発現し、構造的安定化の部位にあり、透明層介在ニューロンと興奮性シナプスを形成する苔状線維終末に局在する。この研究から、歯状回顆粒細胞におけるＡＢＬＩＭ３を下方制御すると、遠隔記憶の汎化が減少し、遠隔記憶の精度が増加し、それによって記憶障害およびＰＴＳＤを緩和する助けになり得ることが見出された。

【０６８３】

本開示は、例えば、ＡＢＬＩＭ３発現の低減または阻害が有益であろう対象、例えば、ＡＢＬＩＭ３関連障害を有する対象を処置するための、他の医薬または他の治療方法と、例えば、公知の医薬または公知の治療方法、例えば、これらの障害を処置するために現在使用されているものなどと組み合わせた、ＲＮＡｉ剤またはその医薬組成物の使用のための方法をさらに提供する。例えば、ある特定の実施形態において、ＡＢＬＩＭ３を標的化するＲＮＡｉ剤は、例えば、本明細書において別の場所に記載されるような、またはそうではなく当技術分野で公知のような、ＡＢＬＩＭ３関連障害の処置において有用な薬剤と組み合わせて投与される。例えば、ＡＢＬＩＭ３発現の低減が有益であろう対象、例えば、ＡＢＬＩＭ３関連障害、例えば、ＰＴＳＤまたは加齢性記憶喪失を有する対象を処置するのに適した追加の薬剤は、これらのＡＢＬＩＭ３関連障害を処置もしくは防止する、またはこれらのＡＢＬＩＭ３関連障害の症状を処置もしくは防止するために現在使用されている薬剤を含み得る。ＲＮＡｉ剤および追加の治療剤または方法は、同時にまたは同一組合せで、例えば、髄腔内に投与されてもよい。あるいは、追加の治療剤または方法は、別個の組成物の一部として、または別個の時間で、または当技術分野で公知のもしくは本明細書に記載される別の方法によって、本発明のＲＮＡｉ剤の投与と併せてまたはそれとは別個に投与できる。

【０６８４】

例えば、ＰＴＳＤを防止または治療するのに適した追加の治療剤および治療方法としては、フルオキセチン（Ｐｒｏｚａｃ）、パロキセチン（Ｐａｘｉｌ）、セルトラリン（Ｚｏｌｏｆｔ）、ベンラファキシン（Ｅｆｆｅｘｏｒ）、抗うつ薬、モノアミンオキシダーゼ阻害剤（ＭＡＯＩ）、抗精神病薬または第二世代抗精神病薬（ＳＧＡ）、β遮断薬、ベンゾジアゼピン、トラウマ焦点化精神療法、長期曝露（ＰＥ）療法、認知処理療法（ＣＰＴ）、および眼球運動による脱感作と再処理法（ＥＭＤＲ）が挙げられる。

【０６８５】

例えば、加齢性記憶喪失を防止または処置するのに適した追加の治療剤および治療方法としては、コリンエステラーゼ阻害剤（Ａｒｉｃｅｐｔ、Ｅｘｅｌｏｎ、Ｒａｚａｄｙｎｅ）、メマンチン（Ｎａｍｅｎｄａ）、Ａｄｄｅｒａｌｌ、およびＲｉｔａｌｉｎが挙げられる。

【０６８６】

さらに、ＡＢＬＩＭ３活性を減少させるか、またはそれに影響を与える薬剤が、本発明の薬剤または方法と併用して使用されてもよい。ＡＢＬＩＭ３活性を減少させるか、またはそれに影響を与える例示的な薬剤としては、これらに限定されるわけではないが、低分子ＡＢＬＩＭ３阻害剤および抗ＡＢＬＩＭ３抗体が挙げられる。

【０６８７】

一実施形態において、方法は、標的ＡＢＬＩＭ３遺伝子の発現が少なくとも１か月間減少するように、本明細書において特徴とされる組成物を投与することを含む。ある特定の実施形態において、発現は、少なくとも２か月、３か月、または６か月間減少する。

【０６８８】
ある特定の実施形態において、本明細書において特徴とされる方法および組成物に有用なＲＮＡｉ剤は、標的ＡＢＬＩＭ３遺伝子の標的ＲＮＡ（一次またはプロセシングされた）を特異的に標的化する。ＲＮＡｉ剤を使用してこれらの遺伝子の発現を阻害するための組成物および方法は、本明細書に記載されるように調製および実施できる。
【０６８９】
本開示の方法によるｄｓＲＮＡの投与は、ＡＢＬＩＭ３関連障害を有する患者においてこのような疾患または障害の重症度、徴候、症状またはマーカーの低減をもたらし得る。これに関連して「低減」とは、このようなレベルの統計的に有意なまたは臨床的に有意な低下を意味する。低減は、例えば、少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％または約１００％であり得る。
【０６９０】
疾患の処置または予防の有効性は、例えば、疾患進行、疾患緩解、症状の重症度、疼痛の低減、生活の質、処置効果を持続するために必要とされる投薬の用量、疾患マーカーまたは処置されているまたは予防のために標的化される所与の疾患にとって適切な任意の他の測定可能なパラメータのレベルを測定することによって評価できる。このようなパラメータのうち任意の１つまたはパラメータの任意の組合せを測定することによって、処置または予防の有効性をモニタリングすることは、十分に当業者の能力の範囲内である。例えば、ＡＢＬＩＭ３関連障害の処置の有効性は、対象のマーカーおよび／または症状の定期的なモニタリングによって評価されてもよい。後の読み取り値を、最初の読み取り値と比較することによって、処置が有効であるか否かの指標が医師に提供される。このようなパラメータのうち任意の１つまたはパラメータの任意の組合せを測定することによって、処置または予防の有効性をモニタリングすることは、十分に当業者の能力の範囲内である。ＡＢＬＩＭ３を標的化するＲＮＡｉ剤またはその医薬組成物の投与に関連して、ＡＢＬＩＭ３関連障害「に対して有効な」は、臨床的に適切な方法での投与が、少なくとも統計的に有意な割合の患者にとって有益な効果、例えば、症状の改善、治癒、疾患の低減、寿命の延長、生活の質の改善またはＡＢＬＩＭ３関連障害および関連原因の処置に精通している医師によって肯定的であると一般的に認識される他の効果をもたらすことを示す。
【０６９１】
処置または予防的効果は、疾患状態の１つまたは複数のパラメータにおいて統計的に有意な改善がある場合に、または悪化しなかったこともしくはそうでなければ予測される症状を発症しなかったことによって明らかである。例として、疾患の測定可能なパラメータにおける少なくとも１０％の好都合な変化、好ましくは、少なくとも２０％、３０％、４０％、５０％またはそれより多くが、有効な処置を示し得る。所与のＲＮＡｉ剤薬物またはその薬物の製剤の有効性はまた、当技術分野で公知のように、所与の疾患の実験動物モデルを使用して判断できる。実験動物モデルを使用する場合には、処置の有効性は、マーカーまたは症状の統計的に有意な低減が観察される場合に証明される。
【０６９２】
あるいは、有効性は、臨床的に許容された疾患重症度類別スケールに基づいて、診断の当業者によって決定されるような疾患の重症度の低減によって測定できる。例えば、適切なスケールを使用して測定される疾患の重症度の減少をもたらす任意の肯定的な変化は、本明細書に記載されるようなＲＮＡｉ剤またはＲＮＡｉ剤製剤を使用する妥当な処置を表す。
【０６９３】
ある特定の実施形態において、対象には、ｄｓＲＮＡの治療量、例えば、約０．０１ｍｇ／ｋｇ～約２００ｍｇ／ｋｇを投与することができる。他の実施形態において、対象には、ｄｓＲＮＡの治療量、例えば、約０．０１ｍｇ／ｋｇ～約５００ｍｇ／ｋｇを投与することができる。さらに他の実施形態において、対象には、約５００ｍｇ／ｋｇまたはそれ以上のｄｓＲＮＡの治療量を投与することができる。

【０６９４】
ＲＮＡｉ剤は、一定期間にわたって定期的に、髄腔内に、硝子体内注射を介して、または静脈内注入によって投与できる。ある特定の実施形態において、最初の処置レジメン後に、より少ない頻度で処置を投与できる。ＲＮＡｉ剤の投与は、例えば、患者の細胞、組織、血液、ＣＳＦ試料または他のコンパートメントにおいてＡＢＬＩＭ３レベルを低減できる。
【０６９５】
ＲＮＡｉ剤の全用量の投与の前に、患者により少ない用量、例えば、５％の注入反応を投与し、有害作用、例えば、アレルギー反応についてモニタリングできる。別の例では、患者を、望まれない免疫賦活性効果、例えば、サイトカイン（例えば、ＴＮＦ－アルファまたはＩＮＦ－アルファ）レベルの増大についてモニタリングできる。
【０６９６】
あるいは、ＲＮＡｉ剤を、皮下に、すなわち、皮下注射によって投与できる。ＲＮＡｉ剤の所望の、例えば、毎月の用量を対象に送達するために、１回または複数回の注射を使用できる。一定期間にわたって、注射を反復できる。投与を定期的に反復できる。ある特定の実施形態において、最初の処置レジメン後に、より少ない頻度で処置を投与できる。反復用量レジメンは、定期的な、例えば、毎月の、または四半期に１回、年に２回、年に１回に延長する、ＲＮＡｉ剤の治療量の投与を含み得る。ある特定の実施形態において、ＲＮＡｉ剤は、月に約１回～四半期に約１回（すなわち、３か月毎に約１回）投与される。
【０６９７】
別段の定義がない限り、本明細書において使用される全ての技術用語および科学用語は、本発明が属する当業者によって一般に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書に記載されているものと類似または同等の方法および材料を、本発明において特徴とされるＲＮＡｉ剤および方法の実施または試験に使用できるが、適した方法および材料を以下に記載する。本明細書で言及される全ての刊行物、特許出願、特許および他の参考文献は、それらの全体が参照により組み込まれる。矛盾する場合には、定義を含む本明細書が支配する。さらに、材料、方法および例は、単に例示的なものであり、制限であるように意図されない。
【０６９８】
非公式な配列表が本明細書と共に提出され、出願される明細書の一部を形成する。
【実施例】
【０６９９】
［実施例１］
ｉＲＮＡ合成
試薬の供給源
試薬の供給源が本明細書に具体的に与えられない場合には、このような試薬は、分子生物学において適用するための品質／純度基準で分子生物学のための試薬の任意の供給者から得ることができる。
【０７００】
ｓｉＲＮＡ設計
ヒトＡｂｌｉｍ３遺伝子（ヒト：ＮＣＢＩ　ｒｅｆｓｅｑＩＤ　ＮＭ_００１３０１０１５．３；ＮＣＢＩ　ＧｅｎｅＩＤ：２２８８５）を標的化するｓｉＲＮＡを、カスタムＲおよびＰｙｔｈｏｎスクリプトを使用して設計した。ヒトＮＭ_００１３０１０１５．３　ＲＥＦＳＥＱ　ｍＲＮＡは、４４５２塩基の長さを有する。
【０７０１】
未修飾のＡｂｌｉｍ３センスおよびアンチセンス鎖のヌクレオチド配列の詳細なリストは、表３に示されている。修飾されたＡｂｌｉｍ３センスおよびアンチセンス鎖のヌクレオチド配列の詳細なリストは、表４に示されている。
【０７０２】

本出願を通して、小数点のない二重鎖名は小数点を有する二重鎖名と同等であり、二重鎖のバッチ番号に言及するに過ぎないということが理解されるべきである。例えば、ＡＤ－１８１００６８は、ＡＤ－１８１００６８．１と同等である。

【０７０３】

ｓｉＲＮＡ合成

ｓｉＲＮＡを、当技術分野で公知の常法を使用して合成し、アニールした。

【０７０４】

簡潔に述べれば、固体支持体に媒介されるホスホラミダイト化学を使用して、Ｍｅｒｍａｄｅ　１９２シンセサイザー（ＢｉｏＡｕｔｏｍａｔｉｏｎ）で、ｓｉＲＮＡ配列を１μｍｏｌスケールで合成した。固体支持体は、カスタムのＧａｌＮＡｃリガンドを装填したコントロールド・ポア・グラス（５００Ａ）または汎用固体支持体（ＡＭ　ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌ）であった。補助的合成試薬、２’－Ｆおよび２’－Ｏ－メチルＲＮＡならびにデオキシホスホラミダイトは、Ｔｈｅｒｍｏ－Ｆｉｓｈｅｒ（Ｍｉｌｗａｕｋｅｅ、ＷＩ）およびＨｏｎｇｅｎｅ（Ｃｈｉｎａ）から入手した。対応するホスホラミダイトを使用して、２’Ｆ２’－Ｏ－メチル、ＧＮＡ（グリコール核酸）、５’ホスフェートおよび他の修飾を導入した。３’ＧａｌＮＡｃコンジュゲート一本鎖の合成は、ＧａｌＮＡｃ修飾されたＣＰＧ支持体上で実施した。アンチセンス一本鎖の合成には、カスタムのＣＰＧ汎用固体支持体を使用した。全てのホスホラミダイト（アセトニトリル中１００ｍＭ）のカップリング時間は５分であり、５－エチルチオ－１Ｈ－テトラゾール（ＥＴＴ）を活性化剤（アセトニトリル中０．６Ｍ）として用いた。ホスホロチオエート結合は、無水アセトニトリル／ピリジン（１：１ｖ／ｖ）中の３－（（ジメチルアミノ－メチリデン）アミノ）－３Ｈ－１，２，４－ジチアゾール－３－チオン［ＤＤＴＴ、Ｃｈｅｍｇｅｎｅｓ（Ｗｉｌｍｉｎｇｔｏｎ、ＭＡ、ＵＳＡ）から入手］の５０ｍＭ溶液を使用して生成した。酸化時間は３分であった。全ての配列は、最後にＤＭＴ基を除去して合成した（「ＤＭＴオフ」）。

【０７０５】

固相合成の完了時に、オリゴリボヌクレオチドを固体支持体から切断し、密閉した９６深型ウェルプレート中で２００μＬのメチルアミン水溶液試薬を６０℃で２０分間使用して脱保護した。ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル（ＴＢＤＭＳ）基で保護された２’リボ残基（２’－ＯＨ）を含有する配列については、ＴＥＡ．３ＨＦ（トリエチルアミントリエチルアミン三フッ化水素酸塩）試薬を使用して第２工程の脱保護を実施した。メチルアミン脱保護溶液に、２００μＬのジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）および３００μＬのＴＥＡ．３ＨＦ試薬を添加し、溶液を６０℃でさらに２０分間インキュベートした。切断および脱保護工程の終了時に合成プレートを室温になるまで放置し、１ｍＬのアセトニトリル（ａｃｅｔｏｎｔｉｌｅ）：エタノール混合物（９：１）を添加することによって沈殿させた。プレートを－８０℃で２時間冷却し、マルチチャンネルピペットを利用して上清を注意深くデカントした。オリゴヌクレオチドペレットを２０ｍＭ　ＮａＯＡｃ バッファーに再懸濁させ、Ａ９０５オートサンプラーおよびＦｒａｃ　９５０フラクションコレクターを備えたＡＫＴＡ　Ｐｕｒｉｆｉｅｒ　Ｓｙｓｔｅｍで５ｍＬのＨｉＴｒａｐサイズ排除カラム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を使用して脱塩した。脱塩した試料を９６ウェルプレート中に収集した。各配列からの試料をＬＣ－ＭＳによって分析してそのアイデンティティを確認し、ＵＶ（２６０ｎｍ）で定量化し、選択した試料のセットをＩＥＸクロマトグラフィーによって純度を決定した。

【０７０６】

一本鎖のアニーリングをＴｅｃａｎ液体ハンドリング自動装置で実施した。９６ウェルプレート中でセンスおよびアンチセンス一本鎖の等モル混合物を合わせ、アニールした。相補的な一本鎖を合わせた後、９６ウェルプレートを堅く密閉し、１００℃のオーブン中で１０分間加熱し、２～３時間かけてゆっくりと室温になるまで放置した。各二重鎖の濃度を１×ＰＢＳ中で１０μＭに正規化し、次いでインビトロスクリーニングアッセイに供した。

［実施例２］
【０７０７】
インビトロスクリーニング法
細胞培養および３８４ウェルトランスフェクション
Ｃｏｓ－７（ＡＴＣＣ）は、ウェルあたり５μｌの１ｎｇ／μＬ（Ｏｐｔｉ－ＭＥＭで希釈）Ｃ９ｏｒｆ７２イントロン１ ｐｓｉＣＨＥＣＫ２ベクター（Ｂｌｕｅ Ｈｅｒｏｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ）、４．９μＬのＯｐｔｉ－ＭＥＭ、加えて０．１μＬのＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ ２０００（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｒｌｓｂａｄ ＣＡ．カタログ番号１１６６８－０１９）を３８４ウェルプレート中のウェルあたり５μＬのｓｉＲＮＡ二重鎖に各ｓｉＲＮＡ二重鎖につき４連で添加し、室温で１５分間インキュベートすることによってトランスフェクトする。次いで約５×１０^{3}個の細胞を含有する３５μＬのダルベッコ改変イーグル培地（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）をｓｉＲＮＡ混合物に添加する。細胞を４８時間インキュベートし、続いてホタル（トランスフェクション対照）およびウミシイタケ（標的配列に融合する）ルシフェラーゼの測定を行う。３つの用量の実験を１０ｎＭ、１ｎＭ、および０．１ｎＭで実施する。
【０７０８】
ＢＥ（２）－Ｃ（ＡＴＣＣ）は、ウェルあたり４．９μＬのＯｐｔｉ－ＭＥＭ、加えて０．１μｌのＲＮＡｉＭＡＸ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｒｌｓｂａｄ ＣＡ．カタログ番号１３７７８－１５０）を、３８４ウェルプレート中のウェルあたり５μＬのｓｉＲＮＡ二重鎖に各ｓｉＲＮＡ二重鎖につき４連で添加し、室温で１５分間インキュベートすることによってトランスフェクトする。次いで、約５×１０^{3}個の細胞を含有する４０μＬの最小必須培地とＦ１２培地との１：１混合物（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）を、ｓｉＲＮＡ混合物に添加する。細胞を４８時間インキュベートした後にＲＮＡ精製を行う。３つの用量の実験を、１０ｎＭ、１ｎＭ、および０．１ｎＭで実施する。
【０７０９】
ＤＹＮＡＢＥＡＤＳ ｍＲＮＡ単離キット［Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ（商標）、品番：６１０－１２］を使用する総ＲＮＡ単離
ウェルあたり３μＬのビーズを含有する７５μＬの溶解／結合バッファーに細胞を溶解させ、静電シェーカー（ｅｌｅｃｔｒｏｓｔａｔｉｃ ｓｈａｋｅｒ）で１０分間混合する。洗浄工程は、磁性プレートの支持体を使用して、Ｂｉｏｔｅｋ ＥＬ４０６で自動化する。ビーズをバッファーＡ中で１回、バッファーＢ中で１回、そしてバッファーＥ中で２回洗浄し（９０μＬ中）、間に吸引工程を挟む。最後の吸引に続いて、以下に記載するように、１０μＬの完成したＲＴ混合物を各ウェルに添加する。
【０７１０】
ＡＢＩ Ｈｉｇｈ ｃａｐａｃｉｔｙ ｃＤＮＡ逆転写キット（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、Ｆｏｓｔｅｒ Ｃｉｔｙ、ＣＡ、カタログ番号４３６８８１３）を使用するｃＤＮＡ合成
反応あたり１μＬの１０×バッファー、０．４μＬの２５×ｄＮＴＰ、１μＬのランダムプライマー、０．５μＬの逆転写酵素、０．５μＬのＲＮアーゼ阻害剤および６．６μＬのＨ$_{2}$Ｏのマスターミックスを各ウェルに添加する。プレートを密封し、静電シェーカーで１０分間撹拌し、次いで３７℃で２時間インキュベートする。これに続いて、プレートを８０℃で８分間撹拌する。
【０７１１】
リアルタイムＰＣＲ
３８４ウェルプレート（Ｒｏｃｈｅカタログ番号０４８８７３０１００１）中のウェルあたり、０．５μＬのヒトＧＡＰＤＨ ＴａｑＭａｎプローブおよび０．５μＬのヒトＡｂｌｉｍ３プローブ、２μＬのヌクレアーゼ不含水、ならびに５μＬのＬｉｇｈｔｃｙｃｌｅｒ ４８０プローブマスターミックス（Ｒｏｃｈｅカタログ番号０４８８７３０１００１）を含有するマスターミックスに、２マイクロリットル（μＬ）のｃＤＮＡを添加する。リアルタイムＰＣＲは、ＬｉｇｈｔＣｙｃｌｅｒ４８０リアルタイムＰＣＲシステム

（Ｒｏｃｈｅ）内で行う。各二重鎖は少なくとも２回試験し、非標的化対照ｓｉＲＮＡをトランスフェクトされた細胞に対してデータを正規化する。相対変化倍数を算出するために、ΔΔＣｔ法を使用してリアルタイムデータを分析し、非標的化対照ｓｉＲＮＡをトランスフェクトされた細胞を用いて実施したアッセイに対して正規化する。

［実施例３］

【０７１２】

ＡＢＬＩＭ３　ｓｉＲＮＡの単回用量インビトロスクリーニング

Ｈｅｐａ１－６マウス肝細胞腫細胞は、５μＬの１ｎｇ／μＬ（Ｏｐｔｉ－ＭＥＭで希釈）の各ｓｉＲＮＡ二重鎖、１００ｎｇのＶ１９０またはＶ１９１ヒトＡＢＬＩＭ３レポーターコンストラクト、加えて０．５μｌのＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ　２０００を、９６ウェルプレート中の個々のウェルに各ｓｉＲＮＡ二重鎖につき４連で添加することによってトランスフェクトした。混合物を室温で１５分間インキュベートした。次いで、約2×10^4個のＨｅｐａ１－６細胞を含有する抗生物質不含の完全増殖培地１００μＬをｓｉＲＮＡ混合物に添加した。細胞を２４時間インキュベートし、続いてホタル（トランスフェクション対照）およびウミシイタケ（標的配列に融合する）ルシフェラーゼの測定を行った。単回用量実験を１ｎＭの最終二重鎖濃度で実施した。その結果を、陰性対照と比較した平均ＡＢＬＩＭ３　ｍＲＮＡ残存率（％）として表５に示す。Ｒｌｕｃ指向性ｓｉＲＮＡの陽性対照も実施した。

【０７１３】

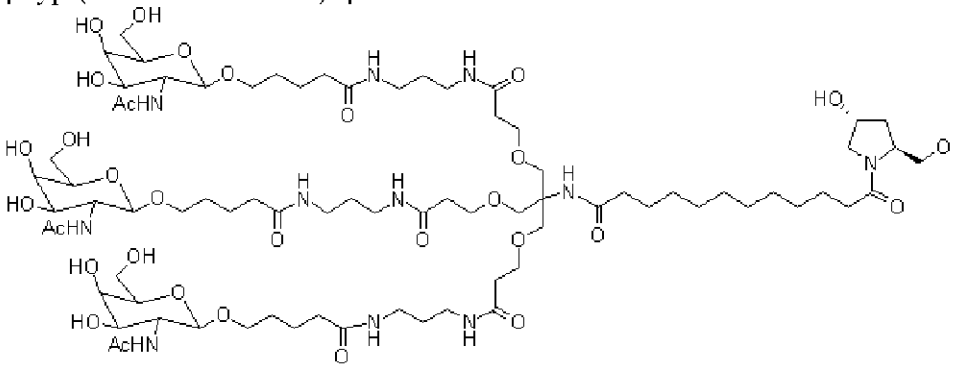
ＮＭ＿００１３０１０１５．３のヌクレオチド３０４２～３０８１、３４２０～３４５７、４２２３～４２６１、７２６～７６３、１０８０～１１３７、１３４２～１３７９、１９１０～１９５５、２１６７～２２０４、４８０～５２０、１０８０～１１２２、１６２２～１６６５、１７４４～１７８７、２３２３～２３６３、５４０～５７８、１１７５～１２１２、２７４～３１３、３４９～４０１、または２５１８～２５５５は、ホットスポット領域を含むことが明確に考察される。これらの領域は、ＡＤ－１８０９７０２、ＡＤ－１８０９７１９、ＡＤ－１８１００３８、ＡＤ－１８１００５３、ＡＤ－１８１０６７６、ＡＤ－１８１０６９２、ＡＤ－１８０７９０４、ＡＤ－１８０７９１９、ＡＤ－１８０８２３８、ＡＤ－１８０８２５８、ＡＤ－１８０８２７３、ＡＤ－１８０８４１８、ＡＤ－１８０８４３３、ＡＤ－１８０８８４２、ＡＤ－１８０８８６５、ＡＤ－１８０９０５１、ＡＤ－１８０９０６６、ＡＤ－１８０７７０７、ＡＤ－１８０７７２５、ＡＤ－１８０８６２８、ＡＤ－１８０８６４９、ＡＤ－１８０８７２７、ＡＤ－１８０８７４８、ＡＤ－１８０９１８７、ＡＤ－１８０９２０５、ＡＤ－１８０７７６４、ＡＤ－１８０７７８０、ＡＤ－１８０８３１２、ＡＤ－１８０８３２７、ＡＤ－１８０７５６１、ＡＤ－１８０７５７８、ＡＤ－１８０７６１６、ＡＤ－１８０７６３１、ＡＤ－１８０７６４６、ＡＤ－１８０９３５４、およびＡＤ－１８０９３６９によって標的化される。表６は、ＮＭ＿００１３０１０１５．３内のホットスポット領域およびホットスポット領域を標的化する二重鎖の要約を示す。

【０７１４】

【表２】

表2. 核酸配列表現に使用されるヌクレオチドモノマーの略称。これらのモノマーは、オリゴヌクレオチド中に存在する場合、5'-3'-ホスホジエステル結合により互いに連結されることが理解されるであろう。また、ヌクレオチドが2'-フルオロ修飾を含有するとき、フルオロが、親ヌクレオチドの当該位置におけるヒドロキシに置き換えられていることが理解される (すなわち、ヌクレオチドは、2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオチドである)。

略称	ヌクレオチド
A	アデノシン-3'-ホスフェート
Ab	ベータ-L-アデノシン-3`-ホスフェート
Abs	ベータ-L-アデノシン-3`-ホスホロチオエート
Af	2'-フルオロアデノシン-3'-ホスフェート
Afs	2'-フルオロアデノシン-3'-ホスホロチオエート
As	アデノシン-3'-ホスホロチオエート
(A2p)	アデノシン-2`-ホスフェート
(A2ps)	アデノシン-2`-ホスホロチオエート
C	シチジン-3'-ホスフェート
Cb	ベータ-L-シチジン-3`-ホスフェート
Cbs	ベータ-L-シチジン-3'-ホスホロチオエート
Cf	2'-フルオロシチジン-3'-ホスフェート
Cfs	2'-フルオロシチジン-3'-ホスホロチオエート
Cs	シチジン-3'-ホスホロチオエート
(C2p)	シチジン-2`-ホスフェート
(C2ps)	シチジン-2`-ホスホロチオエート
G	グアノシン-3'-ホスフェート
Gb	ベータ-L-グアノシン-3`-ホスフェート
Gbs	ベータ-L-グアノシン-3`-ホスホロチオエート
Gf	2'-フルオログアノシン-3'-ホスフェート
Gfs	2'-フルオログアノシン-3'-ホスホロチオエート
Gs	グアノシン-3'-ホスホロチオエート
(G2p)	グアノシン-2`-ホスフェート
(G2ps)	グアノシン-2`-ホスホロチオエート
T	5'-メチルウリジン-3'-ホスフェート
Tf	2'-フルオロ-5-メチルウリジン-3'-ホスフェート
Tfs	2'-フルオロ-5-メチルウリジン-3'-ホスホロチオエート
Ts	5-メチルウリジン-3'-ホスホロチオエート
U	ウリジン-3'-ホスフェート
Uf	2'-フルオロウリジン-3'-ホスフェート
Ufs	2'-フルオロウリジン -3'-ホスホロチオエート
Us	ウリジン -3'-ホスホロチオエート
(U2p)	ウリジン-2`-ホスフェート
(U2ps)	ウリジン-2`-ホスホロチオエート
N	修飾または未修飾の任意のヌクレオチド
a	2'-O-メチルアデノシン-3'-ホスフェート
as	2'-O-メチルアデノシン-3'- ホスホロチオエート
c	2'-O-メチルシチジン-3'-ホスフェート
cs	2'-O-メチルシチジン-3'- ホスホロチオエート
g	2'-O-メチルグアノシン-3'-ホスフェート
gs	2'-O-メチルグアノシン-3'- ホスホロチオエート
t	2'-O-メチル-5-メチルウリジン-3'-ホスフェート
ts	2'-O-メチル-5-メチルウリジン-3'-ホスホロチオエート
u	2'-O-メチルウリジン-3'-ホスフェート

略称	ヌクレオチド
us	2'-O-メチルウリジン-3'-ホスホロチオエート
s	ホスホロチオエート連結
L96	N-[トリス (GalNAc-アルキル)-アミド-ドデカノイル)]-4-ヒドロキシプロリノール |Hyp-(GalNAc-アルキル)3| 
(Agn)	アデノシン- グリコール核酸 (GNA) S-異性体
(Cgn)	シチジン-グリコール核酸 (GNA) S-異性体
(Ggn)	グアノシン-グリコール核酸 (GNA) S-異性体
(Tgn)	チミジン-グリコール核酸 (GNA) S-異性体
P	ホスフェート
VP	ビニル-ホスホネート
dA	2`-デオキシアデノシン-3`-ホスフェート
dAs	2`-デオキシアデノシン-3`-ホスホロチオエート
dC	2`-デオキシシチジン-3`-ホスフェート
dCs	2`-デオキシシチジン-3`-ホスホロチオエート
dG	2`-デオキシグアノシン-3`-ホスフェート
dGs	2`-デオキシグアノシン-3`-ホスホロチオエート
dT	2`-デオキシチミジン-3`-ホスフェート
dTs	2`-デオキシチミジン-3`-ホスホロチオエート
dU	2`-デオキシウリジン
dUs	2`-デオキシウリジン-3`-ホスホロチオエート

【０７１５】

【表３】

表3. ヒトABLIM3 dsRNA剤の未修飾センスおよびアンチセンス鎖配列

二重鎖名	センス配列 5'～3'	配列番号:	NM_001301015.3における範囲	アンチセンス配列 5'～3'	配列番号:	NM_001301015.3における範囲
AD-1807455	CCGGGAUUCCAAUCUGAGGAA	8	82-102	UUCCUCAGAUUGGAAUCCCGGGC	143	80-102
AD-1807481	CUCCUUCUCCUUGCUCUCACA	9	134-154	UGUGAGAGCAAGGAGAAGGAGGC	144	132-154
AD-1807539	CACCUGAGGAUACAGAGCUGA	10	232-252	UCAGCUCUGUAUCCUCAGGUGCU	145	230-252
AD-1807561	CAGGUGAUGAGUGAGGUUCGA	11	276-296	UCGAACCUCACUCAUCACCUGGG	146	274-296
AD-1807578	UCGAAGAACGGAAGAUUUAAA	12	293-313	UUUAAAUCUUCCGUUCUUCGAAC	147	291-313
AD-1807591	CCUCCGUAUUGAAUGAAAGAA	13	326-346	UUCUUUCAUUCAAUACGGAGGCC	148	324-346
AD-1807616	UGCAAAGACAUCACCAUGAAA	14	351-371	UUUCAUGGUGAUGUCUUUGCACU	149	349-371
AD-1807631	AUGAACACUAGCAUUCCUUAA	15	366-386	UUAAGGAAUGCUAGUGUUCAUGG	150	364-386
AD-1807646	CCUUAUCAGCAGAAUCCUUAA	16	381-401	UUAAGGAUUCUGCUGAUAAGGAA	151	379-401
AD-1807659	AGCUCCAAUGUCAUCCAGUGA	17	414-434	UCACUGGAUGACAUUGGAGCUGC	152	412-434
AD-1807707	CAACCACUUCCACAUCAGAUA	18	482-502	UAUCUGAUGUGGAAGUGGUUGUU	153	480-502
AD-1807725	AUGCUUCACCUGUCAAGUAUA	19	500-520	UAUACUUGACAGGUGAAGCAUCU	154	498-520
AD-1807764	AGGCUUCUUCUUCAAGAACCA	20	542-562	UGGUUCUUGAAGAAGAAGCCUGA	155	540-562
AD-1807780	AACCAGGAGUACAUCUGCACA	21	558-578	UGUGCAGAUGUACUCCUGGUUCU	156	556-578
AD-1807804	GACUACCAGCAACUCUAUGGA	22	582-602	UCCAUAGAGUUGCUGGUAGUCCU	157	580-602
AD-1807844	GGGACUUCAUCACAGGCGAAA	23	622-642	UUUCGCCUGUGAUGAAGUCCCGG	158	620-642
AD-1807870	CAAGUGCUUCGUGUGCAGCUA	24	674-694	UAGCUGCACACGAAGCACUUGGG	159	672-694
AD-1807888	CUUGUGCAGGAAGCCUUUCCA	25	692-712	UGGAAAGGCUUCCUGCACAAGCU	160	690-712
AD-1807889	CAUUGGAGACAAGGUGACCUA	26	713-733	UAGGUCACCUUGUCUCCAAUGGG	161	711-733
AD-1807904	GACCUUCAGCGGUAAAGAAUA	27	728-748	UAUUCUUUACCGCUGAAGGUCAC	162	726-748
AD-1807919	AGAAUGUGUGUGCCAAACGUA	28	743-763	UACGUUUGGCACACACAUUCUUU	163	741-763
AD-1807955	CAGCAGUAAGCCCAUCAAGAA	29	779-799	UUCUUGAUGGGCUUACUGCUGGC	164	777-799
AD-1808063	CUGCUUCAAGUGCCAGACCUA	30	887-907	UAGGUCUGGCACUUGAAGCAGCU	165	885-907
AD-1808098	GAUGGUGUUCCAUACUGUGAA	31	942-962	UUCACAGUAUGGAACACCAUCCU	166	940-962
AD-1808139	UGGCAUUAAAUGUGAGACUUA	32	983-1003	UAAGUCUCACAUUUAAUGCCAAA	167	981-1003

二重鎖名	センス配列 5'～3'	配列番号:	NM_001301015.3における範囲	アンチセンス配列 5'～3'	配列番号:	NM_001301015.3における範囲
AD-1808157	UUGUGACCGAUACAUCAGUGA	33	1001-1021	UCACUGAUGUAUCGGUCACAAGU	168	999-1021
AD-1808238	CCACCAGAUGUUCACCGAAGA	34	1082-1102	UCUUCGGUGAACAUCUGGUGGCA	169	1080-1102
AD-1808258	GAGAGGAAAUGUACCUCACAA	35	1102-1122	UUGUGAGGUACAUUUCCUCUCCU	170	1100-1122
AD-1808273	UCACAGGUUCCGAGGUUUGGA	36	1117-1137	UCCAAACCUCGGAACCUGUGAGG	171	1115-1137
AD-1808312	UAAAGCAUAGACGGACAUCUA	37	1177-1197	UAGAUGUCCGUCUAUGCUUUAAC	172	1175-1197
AD-1808327	CAUCUGAAACCUCCAUCUCAA	38	1192-1212	UUGAGAUGGAGGUUUCAGAUGUC	173	1190-1212
AD-1808356	CGAGUCAUCUGCGCUAAAGUA	39	1242-1262	UACUUUAGCGCAGAUGACUCGGU	174	1240-1262
AD-1808383	GAGAUCCUUAAUUACAAAGAA	40	1269-1289	UUCUUUGUAAUUAAGGAUCUCAU	175	1267-1289
AD-1808407	GUCUAUCUACGAGGUACAACA	41	1313-1333	UGUUGUACCUCGUAGAUAGACUU	176	1311-1333
AD-1808418	AUUUCCUAUGAGCCUCAUUCA	42	1344-1364	UGAAUGAGGCUCAUAGGAAAUGA	177	1342-1364
AD-1808433	CAUUCCAGAUACAUGUCCGAA	43	1359-1379	UUCGGACAUGUAUCUGGAAUGAG	178	1357-1379
AD-1808448	UCCGACGAGAUGCUGGAGAGA	44	1374-1394	UCUCUCCAGCAUCUCGUCGGACA	179	1372-1394
AD-1808482	AGUCGCUGGGAACAUUAUCUA	45	1408-1428	UAGAUAAUGUUCCCAGCGACUCU	180	1406-1428
AD-1808511	CAGGACAUCUACGAGAACCUA	46	1437-1457	UAGGUUCUCGUAGAUGUCCUGGG	181	1435-1457
AD-1808561	UCACCACUACUACCGCUCUGA	47	1550-1570	UCAGAGCGGUAGUAGUGGGUGAGG	182	1548-1570
AD-1808598	CAUACCAUAGCCAGUUAGAUA	48	1594-1614	UAUCUAACUGGCUAUGGUAUGGA	183	1592-1614
AD-1808628	CCACUCCAACCUCUUACCAGA	49	1624-1644	UCUGGUAAGAGGUUGGAGUGGAG	184	1622-1644
AD-1808649	CUCCCAAGCACUUUCACAUCA	50	1645-1665	UGAUGUGAAAGUGCUUGGGAGCC	185	1643-1665
AD-1808678	GACAGUAACAUCUACCGGAAA	51	1674-1694	UUUCCGGUAGAUGUUACUGUCUC	186	1672-1694
AD-1808698	UGGUGAUUUGUCUACAGCAAA	52	1715-1735	UUUGCUGUAGACAAAUCACCAUG	187	1713-1735
AD-1808727	ACAAGUGAAGACAUCAGCCAA	53	1746-1766	UUGGCUGAUGUCUUCACUUGUUU	188	1744-1766
AD-1808748	ACCUCCAAGUACAGUCCCAUA	54	1767-1787	UAUGGGACUGUACUUGGAGGUCU	189	1765-1787
AD-1808773	UCGGAGUCUGAGUACUGGACA	55	1812-1832	UGUCCAGUACUCAGACUCCGAAG	190	1810-1832
AD-1808789	AGCCAGAAGGUUCUCGUCUGA	56	1859-1879	UCAGACGAGAACCUUCUGGCUCG	191	1857-1879
AD-1808814	GAGGAGGAUGAUUUGACCGA	57	1884-1904	UCGGUCAAAAUCAUCCUCCUCUC	192	1882-1904
AD-1808842	ACAAGCUCCAAAGUGGAAUUA	58	1912-1932	UAAUUCCACUUUGGAGCUUGUGC	193	1910-1932
AD-1808865	CGGCUGAUUCUGAAGGAAGAA	59	1935-1955	UUCUUCCUUCAGAAUCAGCCGGC	194	1933-1955

二重鎖名	センス配列 5'～3'	配列番号:	NM_001301015.3における範囲	アンチセンス配列 5'～3'	配列番号:	NM_001301015.3における範囲
AD-1808901	AGCUCCUAUGCAGAUCCCUGA	60	1971-1991	UCAGGGAUCUGCAUAGGAGCUCG	195	1969-1991
AD-1808941	UGGCUAUGAGAUGUCCCUCAA	61	2039-2059	UUGAGGGACAUCUCAUAGCCAGC	196	2037-2059
AD-1808978	UCCUCUCAUCUCCAAAUCUGA	62	2096-2116	UCAGAUUUGGAGAUGAGAGGAUC	197	2094-2116
AD-1809009	GCCUACCGAAGAAAUGGGCUA	63	2127-2147	UAGCCCAUUUCUUCGGUAGGCAG	198	2125-2147
AD-1809051	CUCUUCCACUACGACAGCAUA	64	2169-2189	UAUGCUGUCGUAGUGGAAGAGGU	199	2167-2189
AD-1809066	AGCAUGAACGCAGUCAACUGA	65	2184-2204	UCAGUUGACUGCGUUCAUGCUGU	200	2182-2204
AD-1809080	ACAAGAUCUACCCUUAUGAAA	66	2218-2238	UUUCAUAAGGGUAGAUCUUGUAC	201	2216-2238
AD-1809107	UGGUGACUACAAGAGGAAGAA	67	2245-2265	UUCUUCCUCUUGUAGUCACCAGC	202	2243-2265
AD-1809135	GCCCAAGGAUGUAGACAGGAA	68	2273-2293	UUCCUGUCUACAUCCUUGGGCAG	203	2271-2293
AD-1809187	UUCUACCAAGUCUUUGGCAUA	69	2325-2345	UAUGCCAAAGACUUGGUAGAACU	204	2323-2345
AD-1809205	AUGACCAUCUCUGAGUUUGAA	70	2343-2363	UUCAAACUCAGAGAUGGUCAUGC	205	2341-2363
AD-1809246	AAUGAACUGAAGAAGCAAGCA	71	2385-2405	UGCUUGCUUCUUCAGUUCAUUCC	206	2383-2405
AD-1809283	AGGCUCUAUAAAAUAUAUAUGA	72	2422-2442	UCAUAUAUAUUUAUAGAGCCUCU	207	2420-2442
AD-1809293	AUGUAAAAUCUCUCUACUGAA	73	2459-2479	UUCAGUAGAGAGAUUUUACAUAU	208	2457-2479
AD-1809317	CGGUAUAAUCCUCUCUUUGUGA	74	2483-2503	UCACAAGAGAGGAUUAUACCGAG	209	2481-2503
AD-1809354	UGCCAUGAGACUUGCUUUUCA	75	2520-2540	UGAAAAGCAAGUCUCAUGGCAGG	210	2518-2540
AD-1809369	UUUUCUGUACUGUCAGGCAAA	76	2535-2555	UUUGCCUGACAGUACAGAAAAGC	211	2533-2555
AD-1809395	GUCAUCGAGAUAUUUUUAUGA	77	2561-2581	UCAUAAAAAUAUCUCGAUGACGU	212	2559-2581
AD-1809414	UUACUUUCUCUUUUCUAAGUA	78	2585-2605	UACUUAGAAAAGAGAAAGUAAGG	213	2583-2605
AD-1809456	CUGAAACAUCUGUCCUAACUA	79	2667-2687	UAGUUAGGACAGAUGUUUCAGUA	214	2665-2687
AD-1809472	CAACUCUCUUUCCUAAAGAAA	80	2703-2723	UUUCUUUAGGAAAGAGAGUUGGA	215	2701-2723
AD-1809498	UGAAGAAGUCUCUCUUCUCUA	81	2729-2749	UAGAGAAGAGAGACUUCUUCAGG	216	2727-2749
AD-1809511	UUUCUUAAAUUUCUAGGGCUA	82	2764-2784	UAGCCCUAGAAAUUUAAGAAAGG	217	2762-2784
AD-1809535	CUGACCAUGUGGUUUCCACAA	83	2788-2808	UUGUGGAAACCACAUGGUCAGCA	218	2786-2808
AD-1809550	CUCCCAUGGGAAGAUCUGCAA	84	2830-2850	UUGCAGAUCUUCCCAUGGGAGGG	219	2828-2850
AD-1809561	AAAUCAGUGAGCACCUUUGAA	85	2861-2881	UUCAAAGGUGCUCACUGAUUUGG	220	2859-2881
AD-1809585	CCACGAAGAACUUUCUCAACA	86	2885-2905	UGUUGAGAAAGUUCUUCGUGGGC	221	2883-2905

二重鎖名	センス配列 5'～3'	配列番号:	NM_001301015.3における範囲	アンチセンス配列 5'～3'	配列番号:	NM_001301015.3における範囲
AD-1809596	GCAAUGCAGUUAAAAGGGUGA	87	2937-2957	UCACCCUUUUAACUGCAUUGCCC	222	2935-2957
AD-1809617	GCCUCAAAUCUAGUCAUUACA	88	2958-2978	UGUAAUGACUAGAUUUGAGGCUC	223	2956-2978
AD-1809633	UUACACCAGUCAACAGAAGUA	89	2974-2994	UACUUCUGUUGACUGGUGUAAUG	224	2972-2994
AD-1809670	CUCCUCAGCUCCUUAACCCUA	90	3011-3031	UAGGGUUAAGGAGCUGAGGAGAG	225	3009-3031
AD-1809702	UGGAUUGUAACCUCUCCCUUA	91	3044-3064	UAAGGGAGAGGUUACAAUCCAGG	226	3042-3064
AD-1809719	CUUGUCCAAAUCUAGGAUUCA	92	3061-3081	UGAAUCCUAGAUUUGGACAAGGG	227	3059-3081
AD-1809737	UCCUGGUAGGAAAAGGAAAAA	93	3079-3099	UUUUUCCUUUUCCUACCAGGAAU	228	3077-3099
AD-1809757	UCCCUCCACCACUUCCAACUA	94	3110-3130	UAGUUGGAAGUGGUGGAGGGAAG	229	3108-3130
AD-1809773	CUGGACUUGGAGAACCAGAGA	95	3146-3166	UCUCUGGUUCUCCAAGUCCAGGU	230	3144-3166
AD-1809822	CACCUGUUAGAAUCAGAGCUA	96	3203-3223	UAGCUCUGAUUCUAACAGGUGCC	231	3201-3223
AD-1809839	GCUGCAGGAUUUCUUGGGACA	97	3220-3240	UGUCCCAAGAAAUCCUGCAGCUC	232	3218-3240
AD-1809895	UUCCCUCUUUCAAGGAGAAGA	98	3279-3299	UCUUCUCCUUGAAAGAGGGAAGG	233	3277-3299
AD-1809919	UGAUUGCAGCUUGUAUUCUUA	99	3303-3323	UAAGAAUACAAGCUGCAAUCAUG	234	3301-3323
AD-1809937	UUUAGCCUUAUUACAAUCUAA	100	3321-3341	UUAGAUUGUAAUAAGGCUAAAGA	235	3319-3341
AD-1809954	CUAUGUGCCUGACAACUCAAA	101	3338-3358	UUUGAGUUGUCAGGCACAUAGAU	236	3336-3358
AD-1810004	CUCCAACUGAACAACCAGACA	102	3388-3408	UGUCUGGUUGUUCAGUUGGAGCU	237	3386-3408
AD-1810023	CAGACAACUCUCAUCAUCCUA	103	3407-3427	UAGGAUGAUGAGAGUUGUCUGUC	238	3405-3427
AD-1810038	AUCCUCCAGAGAGAAAAUAGA	104	3422-3442	UCUAUUUUCUCUCUGGAGGAUGA	239	3420-3442
AD-1810053	AAUAGGCCGUGUCUCAAAGAA	105	3437-3457	UUCUUUGAGACACGGCCUAUUUU	240	3435-3457
AD-1810068	AAAGAAAGGUUCUUGGUCUAA	106	3452-3472	UUAGACCAAGAACCUUUCUUUGA	241	3450-3472
AD-1810127	UGCUGCAAAGUUGGCCAUGUA	107	3532-3552	UACAUGGCCAACUUUGCAGCAGG	242	3530-3552
AD-1810143	AUGUUUCACAGGGAAACUUUA	108	3548-3568	UAAAGUUUCCCUGUGAAACAUGG	243	3546-3568
AD-1810174	CUGCUUAUGAGAUUCCAAAAA	109	3579-3599	UUUUUGGAAUCUCAUAAGCAGCC	244	3577-3599
AD-1810189	CAAAAUGAAGUGUUGGCCAAA	110	3594-3614	UUUGGCCAACACUUCAUUUUGGA	245	3592-3614
AD-1810221	CCAUCCUGGAUUUUCCCAGUA	111	3626-3646	UACUGGGAAAAUCCAGGAUGGCC	246	3624-3646
AD-1810239	GUGGCUUCCCUUCCUGCUCGA	112	3644-3664	UCGAGCAGGAAGGGAAGCCACUG	247	3642-3664
AD-1810255	AAAGCUUAACCUCUCUUCUCA	113	3682-3702	UGAGAAGAGAGGUUAAGCUUUCU	248	3680-3702

二重鎖名	センス配列 5'～3'	配列番号:	NM_001301015.3における範囲	アンチセンス配列 5'～3'	配列番号:	NM_001301015.3における範囲
AD-1810277	CCAAACCUUUCACCUUGAAUA	114	3706-3726	UAUUCAAGGUGAAAGGUUUGGAG	249	3704-3726
AD-1810292	UGAAUGGGUAAUGUUUGGUGA	115	3721-3741	UCACCAAACAUUACCCAUUCAAG	250	3719-3741
AD-1810296	UGUUCCUUCUUGGAGAAGCCA	116	3746-3766	UGGCUUCUCCAAGAAGGAACAGC	251	3744-3766
AD-1810313	GCCUUGAGUCGGACCAUUUUA	117	3763-3783	UAAAAUGGUCCGACUCAAGGCUU	252	3761-3783
AD-1810345	AAGGAUGAAGAAGUGAAAAUA	118	3796-3816	UAUUUUCACUUCUUCAUCCUUCC	253	3794-3816
AD-1810363	AUGACAAUAAAUGACUCUCAAA	119	3814-3834	UUUGAGAGUCAUUAUUGUCAUUU	254	3812-3834
AD-1810398	ACAUGGCAAAUGUAGAACUGA	120	3849-3869	UCAGUUCUACAUUUGCCAUGUCA	255	3847-3869
AD-1810415	CUGACUUAAAUUGAACAAACA	121	3866-3886	UGUUUGUUCAAUUUAAGUCAGUU	256	3864-3886
AD-1810446	ACCUCUGAUGUUGAGCACCUA	122	3897-3917	UAGGUGCUCAACAUCAGAGGUGC	257	3895-3917
AD-1810468	UGAAUACUGAGCACUGAAUGA	123	3919-3939	UCAUUCAGUGCUCAGUAUUCAGC	258	3917-3939
AD-1810494	CAGGGAUAUGCCUACCAAUAA	124	3986-4006	UUAUUGGUAGGCAUAUCCCUGAG	259	3984-4006
AD-1810526	AGGCAUGUACCCAAACAUAAA	125	4018-4038	UUUAUGUUUGGGUACAUGCCUUA	260	4016-4038
AD-1810545	ACGGAUGUAAGGCAGAAAGUA	126	4037-4057	UACUUUCUGCCUUACAUCCGUUA	261	4035-4057
AD-1810566	AUCGGAGAAGGAAUGAGAAAA	127	4058-4078	UUUUCUCAUUCCUUCUCCGAUCA	262	4056-4078
AD-1810591	GUGAUGUUAAUGAAAAGUCAA	128	4084-4104	UUGACUUUUCAUUAACAUCACGC	263	4082-4104
AD-1810606	AGUCAUAUGCAGCUAGAGCAA	129	4099-4119	UUGCUCUAGCUGCAUAUGACUUU	264	4097-4119
AD-1810638	CUUUCUGGAAGAGAUUGCAUA	130	4131-4151	UAUGCAAUCUCUUCCAGAAAGCU	265	4129-4151
AD-1810666	AUUCAGGAAGGAUCUUUGUAA	131	4159-4179	UUACAAAGAUCCUUCCUGAAUUU	266	4157-4179
AD-1810676	AGAGGGAAGUCUGCUGUGUUA	132	4225-4245	UAACACAGCAGACUUCCCUCUGG	267	4223-4245
AD-1810692	UGUUCUCAUGUAGGAUGUCAA	133	4241-4261	UUGACAUCCUACAUGAGAACACA	268	4239-4261
AD-1810727	UCUCUUUUUGGCCAAUGUCUA	134	4276-4296	UAGACAUUGGCCAAAAAGAGAAG	269	4274-4296
AD-1810742	UGUCUUUUCACUUUCCUGACA	135	4291-4311	UGUCAGGAAAGUGAAAAGACAUU	270	4289-4311
AD-1810757	CUGACCCUUUAGAAUCAUCCA	136	4306-4326	UGGAUGAUUCUAAAGGGUCAGGA	271	4304-4326
AD-1810767	GCAAUCAUGGAAGUUGCCUUA	137	4336-4356	UAAGGCAACUUCCAUGAUUGCGU	272	4334-4356
AD-1810785	UUAUUGUCACUGGUUAAGAAA	138	4354-4374	UUUCUUAACCAGUGACAAUAAGG	273	4352-4374
AD-1810800	AAGAACUUGGCGAGAUUGAAA	139	4369-4389	UUUCAAUCUCGCCAAGUUCUUAA	274	4367-4389
AD-1810818	AAGGGCUUUUGUUAUUGUUGA	140	4387-4407	UCAACAAUAACAAAAGCCCUUCA	275	4385-4407

二重鎖名	センス配列 5'～3'	配列番号:	NM_001301015.3における範囲	アンチセンス配列 5'～3'	配列番号:	NM_001301015.3における範囲
AD-1810822	UUGUUGGAUAUUUUUGUUUCA	141	4404-4424	UGAAACAAAAAAUAUCCAACAACA	276	4402-4424
AD-1810839	UUCCCAUAAAAGCACAUCAUA	142	4421-4441	UAUGAUGUGCUUUUAUGGGAAAC	277	4419-4441

【０７１６】
【表４】

表4. ヒトABLIM3 dsRNA剤の修飾されたセンスおよびアンチセンス鎖配列

二重鎖ID	センス配列5'～3'	配列番号:	アンチセンス配列5'～3'	配列番号:	mRNA 標的配列 5'～3'	配列番号:
AD-1807455	cscsggg(Ahd)UfuCfCfAfaucugaggsasa	278	VPusUfsccuCfaGfAfauggAfaUfcccggsgsc	413	GCCCGGGAUUCCAAUCUGAGGAG	548
AD-1807481	csusccu(Uhd)CfuCfCfUfugcucucascsa	279	VPusGfsugaGfaGfCfaaggAfgAfaggagsgsc	414	GCCUCCUUCUCCUUGCUCUCACC	549
AD-1807539	csasccu(Ghd)AfgGfAfUfacagagcusgsa	280	VPusCfsagcUfcUfGfuaucCfuCfaggugscsu	415	AGCACCUGAGGAUACAGAGCUGG	550
AD-1807561	csasggu(Ghd)AfuGfAfGfugagguucsgsa	281	VPusCfsgaaCfcUfCfacucAfuCfaccugsgsg	416	CCCAGGUGAUGAGUGAGGUUCGA	551
AD-1807578	uscsgaa(Ghd)AfaCfGfGfaagauuuasasa	282	VPusUfsuaaAfuCfUfuccgUfuCfuucgasasc	417	GUUCGAAGAACGGAAGAUUUAAA	552
AD-1807591	cscsucc(Ghd)UfaUfUfGfaaugaaagsasa	283	VPusUfscuuUfcAfUfucaaUfaCfggaggscsc	418	GGCCUCCGUAUUGAAUGAAAGAC	553
AD-1807616	usgscaa(Ahd)GfaCfAfUfcaccaugasasa	284	VPusUfsucaUfgGfUfgaugUfcUfuugcascsu	419	AGUGCAAAGACAUCACCAUGAAC	554
AD-1807631	asusgaa(Chd)AfcUfAfGfcauuccuusasa	285	VPusUfsaagGfaAfUfgcuaGfuGfuucausgsg	420	CCAUGAACACUAGCAUUCCUUAU	555
AD-1807646	cscsuua(Uhd)CfaGfCfAfgaauccuusasa	286	VPusUfsaagGfaUfUfcugcUfgAfuaaggsasa	421	UUCCUUAUCAGCAGAAUCCUUAC	556
AD-1807659	asgscuc(Chd)AfaUfGfUfcauccagusgsa	287	VPusCfsacuGfgAfUfgacaUfuGfgagcusgsc	422	GCAGCUCCAAUGUCAUCCAGUGC	557
AD-1807707	csasacc(Ahd)CfuUfCfCfacaucagasusa	288	VPusAfsucuGfaUfGfuggaAfgUfgguugsusu	423	AACAACCACUUCCACAUCAGAUG	558
AD-1807725	asusgcu(Uhd)CfaCfCfUfgucaaguasusa	289	VPusAfsuacUfuGfAfcaggUfgAfagcauscsu	424	AGAUGCUUCACCUGUCAAGUAUG	559
AD-1807764	asgsgcu(Uhd)CfuUfCfUfucaagaacscsa	290	VPusGfsguuCfuUfGfaagaAfgAfagccusgsa	425	UCAGGCUUCUUCUUCAAGAACCA	560
AD-1807780	asascca(Ghd)GfaGfUfAfcaucugcascsa	291	VPusGfsugcAfgAfUfguacUfcCfugguuscsu	426	AGAACCAGGAGUACAUCUGCACC	561
AD-1807804	gsascua(Chd)CfaGfCfAfacucuaugsgsa	292	VPusCfscauAfgAfGfugcUfgGfuagucscsu	427	AGGACUACCAGCAACUCUAUGGC	562
AD-1807844	gsgsgac(Uhd)UfcAfUfCfacaggcgasasa	293	VPusUfsucgCfcUfGfugauGfaAfgucccsgsg	428	CCGGGACUUCAUCACAGGCGAAG	563
AD-1807870	csasagu(Ghd)CfuUfCfGfugugcagcsusa	294	VPusAfsgcuGfcAfCfacgaAfgCfacuugsgsg	429	CCCAAGUGCUUCGUGUGCAGCUU	564
AD-1807888	csusugu(Ghd)CfaGfGfAfagccuuucscsa	295	VPusGfsgaaAfgGfCfuuccUfgCfacaagscsu	430	AGCUUGUGCAGGAAGCCUUUCCC	565
AD-1807889	csasuug(Ghd)AfgAfCfAfaggugaccsusa	296	VPusAfsgguCfaCfCfuuguCfuCfcaaugsgsg	431	CCCAUUGGAGACAAGGUGACCUU	566
AD-1807904	gsasccu(Uhd)CfaGfCfGfguaaagaasusa	297	VPusAfsuucUfuUfAfccgcUfgAfaggucsasc	432	GUGACCUUCAGCGGUAAAGAAUG	567
AD-1807919	asgsaau(Ghd)UfgUfGfUfgccaaacgsusa	298	VPusAfscguUfuGfGfcacaCfaCfauucususu	433	AAAGAAUGUGUGUGCCAAACGUG	568
AD-1807955	csasgca(Ghd)UfaAfGfCfccaucaagsasa	299	VPusUfscuuGfaUfGfggcuUfaCfugcugsgsc	434	GCCAGCAGUAAGCCCAUCAAGAU	569
AD-1808063	csusgcu(Uhd)CfaAfGfUfgccagaccsusa	300	VPusAfsgguCfuGfGfcacuUfgAfagcagscsu	435	AGCUGCUUCAAGUGCCAGACCUG	570
AD-1808098	gsasugg(Uhd)GfuUfCfCfauacugugsasa	301	VPusUfscacAfgUfAfuggaAfcAfccaucscsu	436	AGGAUGGUGUUCCAUACUGUGAG	571
AD-1808139	usgsgca(Uhd)UfaAfAfUfgugagacususa	302	VPusAfsaguCfuCfAfcauuUfaAfugccasasa	437	UUUGGCAUUAAAUGUGAGACUUG	572
AD-1808157	ususgug(Ahd)CfcGfAfUfacaucagusgsa	303	VPusCfsacuGfaUfGfuaucGfgUfcacaasgsu	438	ACUUGUGACCGAUACAUCAGUGG	573
AD-1808238	cscsacc(Ahd)GfaUfGfUfucaccgaasgsa	304	VPusCfsuucGfgUfGfaacaUfcUfgguggscsa	439	UGCCACCAGAUGUUCACCGAAGG	574

二重鎖ID	センス配列5'～3'	配列番号:	アンチセンス配列5'～3'	配列番号:	mRNA 標的配列 5'～3'	配列番号:
AD-1808258	gsasgag(Ghd)AfaAfUfGfuaccucacsasa	305	VPusUfsgugAfgGfUfacauUfuCfcucucscsu	440	AGGAGAGGAAAUGUACCUCACAG	575
AD-1808273	uscsaca(Ghd)GfuUfCfCfgagguuugsgsa	306	VPusCfscaaAfcCfUfcggaAfcCfugugasgsg	441	CCUCACAGGUUCCGAGGUUUGGC	576
AD-1808312	usasaag(Chd)AfuAfGfAfcggacaucsusa	307	VPusAfsgauGfuCfCfgucuAfuGfcuuuasasc	442	GUUAAAGCAUAGACGGACAUCUG	577
AD-1808327	csasucu(Ghd)AfaAfCfCfuccaucucsasa	308	VPusUfsgagAfuGfGfaggulUfuCfagaugsusc	443	GACAUCUGAAACCUCCAUCUCAC	578
AD-1808356	csgsagu(Chd)AfuCfUfGfcgcuaaagsusa	309	VPusAfscuuUfaGfCfgcagAfuGfacucgsgsu	444	ACCGAGUCAUCUGCGCUAAAGUG	579
AD-1808383	gsasgau(Chd)CfuUfAfAfuuacaaagsasa	310	VPusUfscuuUfgUfAfauuaAfgGfaucucsasu	445	AUGAGAUCCUUAAUUACAAAGAC	580
AD-1808407	gsuscua(Uhd)CfuAfCfGfagguacaascsa	311	VPusGfsuugUfaCfCfucguAfgAfuagacsusu	446	AAGUCUAUCUACGAGGUACAACG	581
AD-1808418	asusuuc(Chd)UfaUfGfAfgccucauuscsa	312	VPusGfsaauGfaGfGfccucaUfaGfgaaausgsa	447	UCAUUUCCUAUGAGCCUCAUUCC	582
AD-1808433	csasuuc(Chd)AfgAfUfAfcaugucccgsasa	313	VPusUfscggAfcAfUfguauCfuGfgaaugsasg	448	CUCAUUCCAGAUACAUGUCCGAC	583
AD-1808448	uscscga(Chd)GfaGfAfUfgcuggagasgsa	314	VPusCfsucuCfcAfGfccaucUfcGfucggascsa	449	UGUCCGACGAGAUGCUGGAGAGA	584
AD-1808482	asgsucg(Chd)UfgGfGfAfacauuaucsusa	315	VPusAfsgauAfaUfGfuuccCfaGfcgacuscsu	450	AGAGUCGCUGGGAACAUUAUCUC	585
AD-1808511	csasgga(Chd)AfuCfUfAfcgagaaccsusa	316	VPusAfsgguUfcUfCfguagAfuGfuccugsgsg	451	CCCAGGACAUCUACGAGAACCUG	586
AD-1808561	uscsacc(Ahd)CfuAfCfUfaccgcucusgsa	317	VPusCfsagaGfcGfGfuaguAfgUfggugasgsg	452	CCUCACCACUACUACCGCUCUGG	587
AD-1808598	csasuac(Chd)AfuAfGfCfcaguuagasusa	318	VPusAfsucuAfaCfUfggcuAfuGfguaugsgsa	453	UCCAUACCAUAGCCAGUUAGAUG	588
AD-1808628	cscsacu(Chd)CfaAfCfCfucuuaccasgsa	319	VPusCfsuggUfaAfGfaggulUfgGfaguggsasg	454	CUCCACUCCAACCUCUUACCAGG	589
AD-1808649	csusccc(Ahd)AfgCfAfCfuuucacauscsa	320	VPusGfsaugUfgAfAfagugCfuUfgggagscsc	455	GGCUCCCAAGCACUUUCACAUCC	590
AD-1808678	gsascag(Uhd)AfaCfAfUfcuaccggasasa	321	VPusUfsuccGfgUfAfgaugUfuAfcugucsusc	456	GAGACAGUAACAUCUACCGGAAA	591
AD-1808698	usgsgug(Ahd)UfuUfGfUfcuacagcasasa	322	VPusUfsugcUfgUfAfggacaAfaUfcaccasusg	457	CAUGGUGAUUUGUCUACAGCAAC	592
AD-1808727	ascsaag(Uhd)GfaAfGfAfcaucagccsasa	323	VPusUfsggcUfgAfUfgucuUfcAfcuugususu	458	AAACAAGUGAAGACAUCAGCCAG	593
AD-1808748	ascscuc(Chd)AfaGfUfAfcagucccasusa	324	VPusAfsuggGfaCfUfguacUfuGfgagguscsu	459	AGACCUCCAAGUACAGUCCCAUC	594
AD-1808773	uscsgga(Ghd)UfcUfGfAfguacuggascsa	325	VPusGfsuccAfgUfAfcucaGfaCfuccgasasg	460	CUUCGGAGUCUGAGUACUGGACC	595
AD-1808789	asgscca(Ghd)AfaGfGfUfucucgucusgsa	326	VPusCfsagaCfgAfGfaaccUfuCfuggcuscsg	461	CGAGCCAGAAGGUUCUCGUCUGG	596
AD-1808814	gsasgga(Ghd)GfaUfGfAfauuugaccsgsa	327	VPusCfsgguCfaAfAfaucaUfcCfuccucsusc	462	GAGAGGAGGAUGAUUUUGACCGC	597
AD-1808842	ascsaag(Chd)UfcCfAfAfaguggaaususa	328	VPusAfsauuCfcAfCfuuugGfaGfcuugusgsc	463	GCACAAGCUCCAAAGUGGAAUUG	598
AD-1808865	csgsgcu(Ghd)AfuUfCfUfgaaggaagsasa	329	VPusUfscuuCfcUfUfcagaAfuCfagccgsgsc	464	GCCGGCUGAUUCUGAAGGAAGAA	599
AD-1808901	asgscuc(Chd)UfaUfGfCfagaucccusgsa	330	VPusCfsaggGfaUfCfugcaUfaGfgagcuscsg	465	CGAGCUCCUAUGCAGAUCCCUGG	600
AD-1808941	usgsgcu(Ahd)UfgAfGfAfuguccucsasa	331	VPusUfsgagGfgAfCfaucuCfaUfagccasgsc	466	GCUGGCUAUGAGAUGUCCCUCAA	601
AD-1808978	uscscuc(Uhd)CfaUfCfUfcaaaucusgsa	332	VPusCfsagaUfuUfGfgagaUfgAfgaggasusc	467	GAUCCUCUCAUCUCCAAAUCUGC	602

二重鎖ID	センス配列5'～3'	配列番号:	アンチセンス配列5'～3'	配列番号:	mRNA 標的配列 5'～3'	配列番号:
AD-1809009	gscscua(Chd)CfgAfAfGfaaaugggcsusa	333	VPusAfsgccCfaUfUfucuuCfgGfuaggcsasg	468	CUGCCUACCGAAGAAAUGGGCUG	603
AD-1809051	csuscuu(Chd)CfaCfUfAfcgacagcasusa	334	VPusAfsugcUfgUfCfguagUfgGfaagagsgsu	469	ACCUCUUCCACUACGACAGCAUG	604
AD-1809066	asgscau(Ghd)AfaCfGfCfagucaacusgsa	335	VPusCfsaguUfgAfCfugcgUfuCfaugcusgsu	470	ACAGCAUGAACGCAGUCAACUGG	605
AD-1809080	ascsaag(Ahd)UfcUfAfCfccuuaugasasa	336	VPusUfsucaUfaAfGfgguaGfaUfcuugusasc	471	GUACAAGAUCUACCCUUAUGAAC	606
AD-1809107	usgsgug(Ahd)CfuAfCfAfagaggaagsasa	337	VPusUfscuuCfcUfCfuuguAfgUfcaccasgsc	472	GCUGGUGACUACAAGAGGAAGAA	607
AD-1809135	gscscca(Ahd)GfgAfUfGfuagacaggsasa	338	VPusUfsccuGfuCfUfacauCfcUfugggcsasg	473	CUGCCCAAGGAUGUAGACAGGAC	608
AD-1809187	ususcua(Chd)CfaAfGfUfcuuuggcasusa	339	VPusAfsugcCfaAfAfgacuUfgGfuagaascsu	474	AGUUCUACCAAGUCUUUGGCAUG	609
AD-1809205	asusgac(Chd)AfuCfUfCfugaguuugsasa	340	VPusUfscaaAfcUfCfagagAfuGfgucausgsc	475	GCAUGACCAUCUCUGAGUUUGAC	610
AD-1809246	asasuga(Ahd)CfuGfAfAfgaagcaagscsa	341	VPusGfscuuGfcUfUfcuucAfgUfucauuscsc	476	GGAAUGAACUGAAGAAGCAAGCC	611
AD-1809283	asgsgcu(Chd)UfaUfAfAfauauauausgsa	342	VPusCfsauaUfaUfAfuuuaUfaGfagccuscsu	477	AGAGGCUCUAUAAAUAUAUAUGC	612
AD-1809293	asusgua(Ahd)AfaUfCfUfcucuacugsasa	343	VPusUfscagUfaGfAfgagaUfuUfuacausasu	478	AUAUGUAAAAUCUCUCUACUGAA	613
AD-1809317	csgsgua(Uhd)AfaUfCfCfucucuugusgsa	344	VPusCfsacaAfgAfGfaggaUfuAfuaccgsasg	479	CUCGGUAUAAUCCUCUCUUGUGU	614
AD-1809354	usgscca(Uhd)GfaGfAfCfuugcuuuuscsa	345	VPusGfsaaaAfgCfAfagucUfcAfuggcasgsg	480	CCUGCCAUGAGACUUGCUUUUCU	615
AD-1809369	ususuuc(Uhd)GfuAfCfUfgucaggcasasa	346	VPusUfsugcCfuGfAfcaguAfcAfgaaaasgsc	481	GCUUUUCUGUACUGUCAGGCAAG	616
AD-1809395	gsuscau(Chd)GfaGfAfUfauuuuuausgsa	347	VPusCfsauaAfaAfAfuaucUfcGfaugacsgsu	482	ACGUCAUCGAGAUAUUUUUAUGC	617
AD-1809414	ususacu(Uhd)UfcUfCfUfuuucuaagsusa	348	VPusAfscuuAfgAfAfagagGfaAfaguaasgsg	483	CCUUACUUUCUCUUUUCUAAGUG	618
AD-1809456	csusgaa(Ahd)CfaUfCfUfgucccuaacsusa	349	VPusAfsguuAfgGfAfcagaUfgUfuucagsusa	484	UACUGAAACAUCUGUCCUAACUU	619
AD-1809472	csasacu(Chd)UfcUfUfUfcccuaaagasasa	350	VPusUfsucuUfuAfGfgaaaGfaGfaguugsgsa	485	UCCAACUCUCUUUCCUAAAGAAG	620
AD-1809498	usgsaag(Ahd)AfgUfCfUfcucuucucsusa	351	VPusAfsgagAfaGfAfgagaCfuUfcuucasgsg	486	CCUGAAGAAGUCUCUCUUCUCUC	621
AD-1809511	ususucu(Uhd)AfaAfUfUfcucuagggcsusa	352	VPusAfsgccCfuAfGfaaauUfuAfagaaasgsg	487	CCUUUCUUAAAUUUCUAGGGCUG	622
AD-1809535	csusgac(Chd)AfuGfUfGfguuuccacsasa	353	VPusUfsgugGfaAfAfccacAfuGfgucagscsa	488	UGCUGACCAUGUGGUUUCCACAC	623
AD-1809550	csusccc(Ahd)UfgGfGfAfagaucugcsasa	354	VPusUfsgcaGfaUfCfuuccCfaUfgggagsgsg	489	CCCUCCCAUGGGAAGAUCUGCAG	624
AD-1809561	asasauc(Ahd)GfuGfAfGfcaccuuugsasa	355	VPusUfscaaAfgGfUfgcucAfcUfgauuusgsg	490	CCAAAUCAGUGAGCACCUUUGAG	625
AD-1809585	cscsacg(Ahd)AfgAfAfAfcuucucaascsa	356	VPusGfsuugAfgAfAfaguuCfuUfcguggsgsc	491	GCCCACGAAGAACUUUCUCAACA	626
AD-1809596	gscsaau(Ghd)CfaGfUfCfaaaagggusgsa	357	VPusCfsaccCfuUfUfuaacUfgCfauugcscsc	492	GGGCAAUGCAGUUAAAAGGGUGA	627
AD-1809617	gscscuc(Ahd)AfaUfCfUfagucauuascsa	358	VPusGfsuaaUfgAfCfuagaUfuUfgaggcsusc	493	GAGCCUCAAAUCUAGUCAUUACA	628
AD-1809633	ususaca(Chd)CfaGfUfUfcfaacagaagsusa	359	VPusAfscuuCfuGfUfugacUfgGfuguaasusg	494	CAUUACACCAGUCAACAGAAGUG	629
AD-1809670	csusccu(Chd)AfgCfUfCfcuuaacccsusa	360	VPusAfsgggUfuAfAfggagCfuGfaggagsasg	495	CUCUCCUCAGCUCCUUAACCCUC	630

二重鎖ID	センス配列5'～3'	配列番号:	アンチセンス配列5'～3'	配列番号:	mRNA 標的配列 5'～3'	配列番号:
AD-1809702	usgsgau(Uhd)GfuAfAfCfcucuccususa	361	VPusAfsaggGfaGfAfgguuAfcAfauccasgsg	496	CCUGGAUUGUAACCUCUCCCUUG	631
AD-1809719	csusugu(Chd)CfaAfAfUfcuaggauuscsa	362	VPusGfsaauCfcUfAfgauuUfgGfacaagsgsg	497	CCCUUGUCCAAAUCUAGGAUUCC	632
AD-1809737	uscscug(Ghd)UfaGfGfAfaaaggaaasasa	363	VPusUfsuuuCfcUfUfuuccUfaCfcaggasasu	498	AUUCCUGGUAGGAAAAGGAAAAG	633
AD-1809757	uscsccu(Chd)CfaCfCfAfcuuccaacsusa	364	VPusAfsguuGfgAfAfguggUfgGfagggasasg	499	CUUCCCUCCACCACUUCCAACUG	634
AD-1809773	csusgga(Chd)UfuGfGfAfgaaccagasgsa	365	VPusCfsucuGfgUfUfccuccAfaGfuccagsgsu	500	ACCUGGACUUGGAGAACCAGAGG	635
AD-1809822	csasccu(Ghd)UfuAfGfAfaucagagcsusa	366	VPusAfsgcuCfuGfAfuucuAfaCfaggugscsc	501	GGCACCUGUUAGAAUCAGAGCUG	636
AD-1809839	gscsugc(Ahd)GfgAfUfUfucuugggascsa	367	VPusGfsuccCfaAfGfaaauCfcUfgcagcsusc	502	GAGCUGCAGGAUUUCUUGGGACC	637
AD-1809895	ususccc(Uhd)CfuUfUfCfaaggagaasgsa	368	VPusCfsuucUfcCfUfugaaAfgAfgggaasgsg	503	CCUUCCCUCUUUCAAGGAGAAGC	638
AD-1809919	usgsaau(Ghd)CfaGfCfUfuguauucususa	369	VPusAfsagaAfuAfCfaagcUfgCfaaucasusg	504	CAUGAUUGCAGCUUGUAUUCUUU	639
AD-1809937	ususuag(Chd)CfuUfAfUfuacaaucusasa	370	VPusUfsagaUfuGfUfaauaAfgGfcuaaasgsa	505	UCUUUAGCCUUAUUACAAUCUAU	640
AD-1809954	csusaug(Uhd)GfcCfUfGfacaacucasasa	371	VPusUfsugaGfuUfGfucagGfcAfcauagsasu	506	AUCUAUGUGCCUGACAACUCAAC	641
AD-1810004	csuscca(Ahd)CfuGfAfAfcaaccagascsa	372	VPusGfsucuGfgUfUfguucAfgUfuggagscsu	507	AGCUCCAACUGAACAACCAGACA	642
AD-1810023	csasgac(Ahd)AfcUfCfUfcaucauccsusa	373	VPusAfsggaUfgAfUfgagaGfuUfgucugsusc	508	GACAGACAACUCUCAUCAUCCUC	643
AD-1810038	asusccu(Chd)CfaGfAfGfagaaaauasgsa	374	VPusCfsuauUfuUfCfucucUfgGfaggausgsa	509	UCAUCCUCCAGAGAGAAAAUAGG	644
AD-1810053	asasuag(Ghd)CfcGfUfGfucucaaagsasa	375	VPusUfscuuUfgAfGfacacGfgCfcuauususu	510	AAAAUAGGCCGUGUCUCAAAGAA	645
AD-1810068	asasaga(Ahd)AfgGfUfUfcuuggucusasa	376	VPusUfsagaCfcAfAfgaacCfuUfucuuusgsa	511	UCAAAGAAAGGUUCUUGGUCUAU	646
AD-1810127	usgscug(Chd)AfaAfGfUfuggccaugsusa	377	VPusAfscauGfgCfCfaacuUfuGfcagcasgsg	512	CCUGCUGCAAAGUUGGCCAUGUU	647
AD-1810143	asusguu(Uhd)CfaCfAfGfggaaacuususa	378	VPusAfsaagUfuUfCfccugUfgAfaacausgsg	513	CCAUGUUUCACAGGGAAACUUUU	648
AD-1810174	csusgcu(Uhd)AfuGfAfGfauuccaaasasa	379	VPusUfsuuuGfgAfAfaucucAfuAfagcagscsc	514	GGCUGCUUAUGAGAUUCCAAAAU	649
AD-1810189	csasaaa(Uhd)GfaAfGfUfguuggccasasa	380	VPusUfsuggCfcAfAfcacuUfcAfuuuugsgsa	515	UCCAAAAUGAAGUGUUGGCCAAC	650
AD-1810221	cscsauc(Chd)UfgGfAfUfuuucccagsusa	381	VPusAfscugGfgAfAfaaucCfaGfgauggscsc	516	GGCCAUCCUGGAUUUUCCCAGUG	651
AD-1810239	gsusggc(Uhd)UfcCfCfUfuccugcucsgsa	382	VPusCfsgagCfaGfGfaaggGfaAfgccacsusg	517	CAGUGGCUUCCCUUCCUGCUCGC	652
AD-1810255	asasagc(Uhd)UfaAfCfCfucucuucscsa	383	VPusGfsagaAfgAfGfagguUfaAfgcuuuscsu	518	AGAAAGCUUAACCUCUCUUCUCC	653
AD-1810277	cscsaaa(Chd)CfuUfUfCfaccuugaasusa	384	VPusAfsuucAfaGfGfugaaAfgGfuuuggsasg	519	CUCCAAACCUUUCACCUUGAAUG	654
AD-1810292	usgsaau(Ghd)GfgUfAfUfuguuuggusgsa	385	VPusCfsaccAfaAfCfauuaCfcCfauucasasg	520	CUUGAAUGGGUAAUGUUUGGUGG	655
AD-1810296	usgsuuc(Chd)UfuCfUfCfaggagaagcscsa	386	VPusGfsgcuUfcUfCfccaagAfaGfgaacasgsc	521	GCUGUUCCUUCUUGGAGAAGCCU	656
AD-1810313	gscscuu(Ghd)AfgUfCfGfgaccauuususa	387	VPusAfsaaaUfgGfUfccgaCfuCfaaggcsusu	522	AAGCCUUGAGUCGGACCAUUUUG	657
AD-1810345	asasgga(Uhd)GfaAfGfAfagugaaaasusa	388	VPusAfsuuuCfcAfCfucuuUfcAfuccuusesc	523	GGAAGGAUGAAGAAGUGAAAAUG	658

二重鎖ID	センス配列5'～3'	配列番号:	アンチセンス配列5'～3'	配列番号:	mRNA 標的配列 5'～3'	配列番号:
AD-1810363	asusgac(Ahd)AfuAfAfUfgacucucasasa	389	VPusUfsugaGfaGfUfcauuAfuUfgucaususu	524	AAAUGACAAUAAUGACUCUCAAG	659
AD-1810398	ascsaug(Ghd)CfaAfAfUfguagaacusgsa	390	VPusCfsaguUfcUfAfcauuUfgCfcauguscsa	525	UGACAUGGCAAAUGUAGAACUGA	660
AD-1810415	csusgac(Uhd)UfaAfAfUfugaacaaascsa	391	VPusGfsuuuGfuUfCfaauuUfaAfgucagsusu	526	AACUGACUUAAAUUGAACAAACC	661
AD-1810446	ascscuc(Uhd)GfaUfGfUfugagcaccsusa	392	VPusAfsgguGfcUfCfaacaUfcAfgaggusgsc	527	GCACCUCUGAUGUUGAGCACCUG	662
AD-1810468	usgsaau(Ahd)CfuGfAfGfcacugaausgsa	393	VPusCfsauuCfaGfUfgcucAfgUfauucasgsc	528	GCUGAAUACUGAGCACUGAAUGG	663
AD-1810494	csasggg(Ahd)UfaUfGfCfcuaccaausasa	394	VPusUfsauuGfgUfAfggcaUfaUfcccugsasg	529	CUCAGGGAUAUGCCUACCAAUAG	664
AD-1810526	asgsgca(Uhd)GfuAfCfCfcaaacauasasa	395	VPusUfsuauGfuUfUfggguAfcAfugccususa	530	UAAGGCAUGUACCCAAACAUAAC	665
AD-1810545	ascsgga(Uhd)GfuAfAfGfgcagaaagsusa	396	VPusAfscuuUfcUfGfccuuAfcAfuccgususa	531	UAACGGAUGUAAGGCAGAAAGUG	666
AD-1810566	asuscgg(Ahd)GfaAfGfGfaaugagaasasa	397	VPusUfsuucUfcAfUfuccuUfcUfccgauscsa	532	UGAUCGGAGAAGGAAUGAGAAAG	667
AD-1810591	gsusgau(Ghd)UfuAfAfUfgaaaagucsasa	398	VPusUfsgacUfuUfUfcauuAfaCfaucacsgsc	533	GCGUGAUGUUAAUGAAAAGUCAU	668
AD-1810606	asgsuca(Uhd)AfuGfCfAfgcuagagcsasa	399	VPusUfsgcuCfuAfGfcugcAfuAfugacususu	534	AAAGUCAUAUGCAGCUAGAGCAG	669
AD-1810638	csusuuc(Uhd)GfgAfAfGfagauugcasusa	400	VPusAfsugcAfaUfCfucuuCfcAfgaaagscsu	535	AGCUUUCUGGAAGAGAUUGCAUC	670
AD-1810666	asusuca(Ghd)GfaAfGfGfaucuuugusasa	401	VPusUfsacaAfaGfAfuccuUfcCfugaaususu	536	AAAUUCAGGAAGGAUCUUUGUAG	671
AD-1810676	asgsagg(Ghd)AfaGfUfCfugcugugususa	402	VPusAfsacaCfaGfCfagacUfuCfccucusgsg	537	CCAGAGGGAAGUCUGCUGUGUUC	672
AD-1810692	usgsuuc(Uhd)CfaUfGfUfaggaugucsasa	403	VPusUfsgacAfuCfCfuacaUfgAfgaacascsa	538	UGUGUUCUCAUGUAGGAUGUCAG	673
AD-1810727	uscsucu(Uhd)UfuUfGfGfccaaugucsusa	404	VPusAfsgacAfuUfGfgccaAfaAfagagasasg	539	CUUCUCUUUUUGGCCAAUGUCUU	674
AD-1810742	usgsucu(Uhd)UfuCfAfCfuuuccugascsa	405	VPusGfsucaGfgAfAfagugAfaAfagacasusu	540	AAUGUCUUUUCACUUUCCUGACC	675
AD-1810757	csusgac(Chd)CfuUfUfAfgaaucaucscsa	406	VPusGfsgauGfaUfUfcuaaAfgGfgucagsgsa	541	UCCUGACCCUUUAGAAUCAUCCC	676
AD-1810767	gscsaau(Chd)AfuGfGfAfaguugccususa	407	VPusAfsaggCfaAfCfuuccAfuGfauugcsgsu	542	ACGCAAUCAUGGAAGUUGCCUUA	677
AD-1810785	ususauu(Ghd)UfcAfCfUfgguuaagasasa	408	VPusUfsucuUfaAfCfcaguGfaCfaauaasgsg	543	CCUUAUUGUCACUGGUUAAGAAC	678
AD-1810800	asasgaa(Chd)UfuGfGfCfgagauugasasa	409	VPusUfsucaAfuCfUfcgccAfaGfuucuusasa	544	UUAAGAACUUGGCGAGAUUGAAG	679
AD-1810818	asasggg(Chd)UfuUfUfGfuuauuguusgsa	410	VPusCfsaacAfaUfAfacaaAfaGfcccuuscsa	545	UGAAGGGCUUUUGUUAUUGUUGU	680
AD-1810822	ususguu(Ghd)GfaUfAfUfuuuuguuuscsa	411	VPusGfsaaaCfaAfAfaauaUfcCfaacaascsa	546	UGUUGUUGGAUAUUUUUGUUUCC	681
AD-1810839	ususccc(Ahd)UfaAfAfAfgcacaucasusa	412	VPusAfsugaUfgUfGfcuuuUfaUfgggaasasc	547	GUUUCCCAUAAAAGCACAUCAUU	682

【０７１７】

【表５】

表5: Hepa1-6細胞におけるABLIM3 の単回用量スクリーン

二重鎖名	残存 ABLIM3 メッセージ(%)		二重鎖名	残存 ABLIM3 メッセージ(%)	
	平均	SD		平均	SD
AD-1810839.1	49.940	1.488	AD-1809293.1	18.881	1.411
AD-1810822.1	47.037	1.563	AD-1809283.1	2.900	0.279
AD-1810818.1	48.205	1.013	AD-1809246.1	8.773	0.999
AD-1810800.1	51.029	3.275	AD-1809205.1	8.458	0.483
AD-1810785.1	50.509	2.233	AD-1809187.1	4.142	0.183
AD-1810767.1	48.138	2.366	AD-1809135.1	18.581	0.778
AD-1810757.1	62.353	1.932	AD-1809107.1	13.513	1.581
AD-1810742.1	54.296	3.748	AD-1809205.1	17.023	1.176
AD-1810727.1	59.165	1.980	AD-1809187.1	11.397	0.772
AD-1810692.1	55.551	1.804	AD-1809135.1	34.202	3.523
AD-1810676.1	66.324	1.823	AD-1809107.1	30.671	1.055
AD-1810666.1	51.279	1.499	AD-1809080.1	94.268	2.234
AD-1810638.1	50.405	1.370	AD-1809066.1	37.454	0.708
AD-1810606.1	49.318	1.427	AD-1809051.1	37.525	2.644
AD-1810591.1	47.445	1.020	AD-1809009.1	50.593	2.955
AD-1810566.1	46.991	1.020	AD-1808978.1	28.150	0.731
AD-1810545.1	77.584	2.483	AD-1808941.1	31.554	1.946
AD-1810526.1	48.566	2.463	AD-1808901.1	38.254	0.646
AD-1810494.1	52.776	2.132	AD-1808865.1	30.500	1.028
AD-1810468.1	46.448	1.662	AD-1808842.1	38.960	0.483
AD-1810446.1	54.281	1.793	AD-1808814.1	22.480	1.096
AD-1810415.1	44.403	2.813	AD-1808789.1	46.633	1.426
AD-1810398.1	49.302	2.611	AD-1808773.1	61.336	2.458
AD-1810363.1	48.303	0.735	AD-1808748.1	32.402	1.061
AD-1810345.1	56.469	6.579	AD-1808727.1	29.449	1.943
AD-1810313.1	69.402	3.692	AD-1808698.1	25.513	1.463
AD-1810296.1	58.716	3.020	AD-1808678.1	41.395	0.879
AD-1810292.1	52.975	4.214	AD-1808649.1	29.492	0.446
AD-1810277.1	49.085	2.042	AD-1808628.1	31.293	0.539
AD-1810255.1	46.815	1.824	AD-1808598.1	28.085	0.851
AD-1810239.1	63.361	1.618	AD-1808561.1	48.147	1.805
AD-1810221.1	56.534	2.689	AD-1808511.1	50.948	3.050
AD-1810189.1	64.800	5.754	AD-1808482.1	59.364	1.486
AD-1810174.1	44.716	1.350	AD-1808448.1	51.937	1.799
AD-1810143.1	66.647	1.603	AD-1808433.1	37.064	0.551
AD-1810127.1	59.790	2.418	AD-1808418.1	24.593	0.687
AD-1810068.1	59.756	0.562	AD-1808407.1	33.131	0.798
AD-1810053.1	73.408	0.901	AD-1808383.1	10.345	0.532
AD-1810038.1	57.000	1.540	AD-1808356.1	29.735	1.068
AD-1810023.1	59.887	3.676	AD-1808327.1	22.413	1.016
AD-1810004.1	56.400	4.003	AD-1808312.1	21.839	0.800
AD-1809954.1	48.343	3.077	AD-1808273.1	44.109	1.721
AD-1809937.1	38.981	1.083	AD-1808258.1	25.762	1.062
AD-1809919.1	51.413	1.534	AD-1808238.1	30.415	2.284
AD-1809895.1	60.898	2.216	AD-1808157.1	50.280	1.509
AD-1809839.1	56.989	2.001	AD-1808139.1	22.362	0.865
AD-1809822.1	46.487	4.020	AD-1808098.1	19.558	0.482
AD-1809773.1	64.240	1.399	AD-1808063.1	40.421	1.032
AD-1809757.1	54.610	1.245	AD-1807955.1	31.513	1.425
AD-1809737.1	46.954	2.502	AD-1807919.1	42.415	1.307
AD-1809719.1	51.801	1.864	AD-1807904.1	31.449	0.822

AD-1809702.1	60.105	2.076	AD-1807889.1	54.480	2.939
AD-1809670.1	54.809	1.835	AD-1807888.1	38.152	1.731
AD-1809633.1	53.875	5.306	AD-1807870.1	65.949	3.009
AD-1809617.1	46.580	3.490	AD-1807844.1	68.255	2.054
AD-1809596.1	49.445	1.087	AD-1807804.1	29.939	1.630
AD-1809585.1	44.319	2.153	AD-1807780.1	23.409	0.426
AD-1809561.1	68.525	1.535	AD-1807764.1	21.667	1.047
AD-1809550.1	62.777	3.584	AD-1807725.1	18.939	0.695
AD-1809535.1	58.258	2.222	AD-1807707.1	32.573	1.716
AD-1809511.1	57.067	2.201	AD-1807659.1	40.382	1.804
AD-1809498.1	83.585	2.024	AD-1807646.1	9.393	0.687
AD-1809472.1	59.655	2.843	AD-1807631.1	8.050	0.376
AD-1809456.1	48.165	0.977	AD-1807616.1	12.937	0.426
AD-1809414.1	43.623	3.988	AD-1807591.1	13.957	0.555
AD-1809395.1	40.931	1.346	AD-1807578.1	10.386	0.234
AD-1809369.1	57.180	1.004	AD-1807561.1	19.352	0.706
AD-1809354.1	43.339	1.502	AD-1807539.1	24.797	1.176
AD-1809317.1	43.226	0.758	AD-1807481.1	21.057	1.421
陽性対照	0.805	0.152	AD-1807455.1	23.271	0.848

【０７１８】

【表６】

表6. ABLIM3 mRNA内のホットスポット領域

ホットスポット領域を標的化する二重鎖ID	残存メッセージ (%)	開始	終了	配列番号:	mRNA標的配列 (NM_001301015.3)
AD-1809702, AD-1809719	< 50	3042	3081	683	CCTGGATTGTAACCTCTCCCTTGTCCAAATCTAGGATTCC
AD-1810038, AD-1810053	< 50	3420	3457	684	TCATCCTCCAGAGAGAAAATAGGCCGTGTCTCAAAGAA
AD-1810676, AD-1810692	< 50	4223	4261	685	CCAGAGGGAAGTCTGCTGTGTTCTCATGTAGGATGTCAG
AD-1807904, AD-1807919	< 45	726	763	686	GTGACCTTCAGCGGTAAAGAATGTGTGTGCCAAACGTG
AD-1808238, AD-1808258, AD-1808273	< 45	1080	1137	687	TGCCACCAGATGTTCACCGAAGGAGAGGAAATGTACCTCACAGGTTCCGAGGTTTGGC
AD-1808418, AD-1808433	< 40	1342	1379	688	TCATTTCCTATGAGCCTCATTCCAGATACATGTCCGAC
AD-1808842, AD-1808865	< 40	1910	1955	689	GCACAAGCTCCAAAGTGGAATTGGCCGGCTGATTCTGAAGGAAGAA
AD-1809051, AD-1809066	< 40	2167	2204	690	ACCTCTTCCACTACGACAGCATGAACGCAGTCAACTGG
AD-1807707, AD-1807725	< 35	480	520	691	AACAACCACTTCCACATCAGATGCTTCACCTGTCAAGTATG
AD-1808238, AD-1808258	< 35	1080	1122	692	TGCCACCAGATGTTCACCGAAGGAGAGGAAATGTACCTCACAG
AD-1808628, AD-1808649	< 35	1622	1665	693	CTCCACTCCAACCTCTTACCAGGCTCCCAAGCACTTTCACATCC
AD-1808727, AD-1808748	< 35	1744	1787	694	AAACAAGTGAAGACATCAGCCAGACCTCCAAGTACAGTCCCATC
AD-1809187, AD-1809205	< 35	2323	2363	695	AGTTCTACCAAGTCTTTGGCATGACCATCTCTGAGTTTGAC
AD-1807764, AD-1807780	< 25	540	578	696	TCAGGCTTCTTCTTCAAGAACCAGGAGTACATCTGCACC
AD-1808312, AD-1808327	< 25	1175	1212	697	GTTAAAGCATAGACGGACATCTGAAACCTCCATCTCAC
AD-1807561, AD-1807578	< 20	274	313	698	CCCAGGTGATGAGTGAGGTTCGAAGAACGGAAGATTTAAA
AD-1807616, AD-1807631, AD-1807646	< 15	349	401	699	AGTGCAAAGACATCACCATGAACACTAGCATTCCTTATCAGCAGAATCCTTAC
AD-1809354, AD-1809369	< 10	2518	2555	700	CCTGCCATGAGACTTGCTTTTCTGTACTGTCAGGCAAG

【０７１９】

ＡＢＬＩＭ３配列

SEQ ID NO:1
>NM_001301015.3 Homo sapiens actin binding LIM protein family member 3 (ABLIM3), transcript variant 1, mRNA

ACACCCCCTTTGGGCTCCGGAGCCGCTGGGCAGGAATAGTCCGGGGGTGCGCGCGAGCAGGCGCTGCCAACCCCACT
TCTGCCCGGGATTCCAATCTGAGGAGCAGGAGGACCGGGGCGCCGGTGTCCTGCCGCCTCCTCTCCTTGCTCTCA
CCTGCGCCTATTAGTCCACGCGCCTTCAAGGCCAGGGGCTACAGCCCAGACAGAGAGGGGACAGCAGAGGGAGAGA
GAGCACCTGAGGATACAGAGCTGGCACTGGACTGCCTTTTCACCCCCCAGGTGATGAGTGAGGTTCGAAGAACGGA
AGATTTAAAAAGCAGCCGGGGCCTCCGTATTGAATGAAAGACCCAGTGCAAAGACATCACCATGAACACTAGCATT
CCTTATCAGCAGAATCCTTACAATCCACGGGGCAGCTCCAATGTCATCCAGTGCTACCGCTGTGGAGACACCTGCA
AAGGGAAGTGGTCCGCGTGCACAACAACCACTTCCACATCAGATGCTTCACCTGTCAAGTATGTGGCTGTGGCCT
GGCCCAGTCAGGCTTCTTCTTCAAGAACCAGGAGTACATCTGCACCCAGGACTACCAGCAACTCTATGGCACCCGC
TGTGACAGCTGCCGGGACTTCATCACAGGCGAAGTCATCTCGGCCCTGGGCCGCACTTACCACCCCAAGTGCTTCG

TGTGCAGCTTGTGCAGGAAGCCTTTCCCCATTGGAGACAAGGTGACCTTCAGCGGTAAAGAATGTGTGTGCCAAAC
GTGCTCCCAGTCCATGGCCAGCAGTAAGCCCATCAAGATTCGTGGACCAAGCCACTGTGCCGGGTGCAAGGAGGAG
ATCAAGCACGGCCAGTCACTCCTGGCTCTGGACAAGCAGTGGCACGTCAGCTGCTTCAAGTGCCAGACCTGCAGCG
TCATCCTCACCGGGGAGTATATCAGCAAGGATGGTGTTCCATACTGTGAGTCCGACTACCATGCCCAGTTTGGCAT
TAAATGTGAGACTTGTGACCGATACATCAGTGGCAGAGTCTTGGAGGCAGGAGGGAAGCACTACCACCCAACCTGT
GCCAGGTGTGTACGCTGCCACCAGATGTTCACCGAAGGAGAGGAAATGTACCTCACAGGTTCCGAGGTTTGGCACC
CCATCTGCAAACAGGCAGCCCGGGCAGAGAAGAAGTTAAAGCATAGACGGACATCTGAAACCTCCATCTCACCCCC
TGGATCCAGCATTGGGTCACCCAACCGAGTCATCTGCGCTAAAGTGGATAATGAGATCCTTAATTACAAAGACCTG
GCGGCTCTCCCCAAGGTTAAGTCTATCTACGAGGTACAACGCCCCGACCTCATTTCCTATGAGCCTCATTCCAGAT
ACATGTCCGACGAGATGCTGGAGAGATGTGGCTATGGAGAGTCGCTGGGAACATTATCTCCCTACTCCCAGGACAT
CTACGAGAACCTGGACCTCCGGCAGAGACGGGCCTCCAGCCCGGGGTACATAGACTCCCCCACCTACAGCCGGCAG
GGCATGTCCCCCACCTTCTCCCGCTCACCTCACCACTACTACCGCTCTGGGCCCGAGAGTGGCCGGAGCTCTCCAT
ACCATACCCAGTTAGATCTCAGCTCCTCCACTCCAACCTCTTACCACGCTCCCAAGCACTTTCACATCCCAGCTGC
AGACAGTAACATCTACCGGAAACCCCCGATCTACAAACGGCATGGTGATTTGTCTACAGCAACCAAGAGCAAAACA
AGTGAAGACATCAGCCAGACCTCCAAGTACAGTCCCATCTACTCGCCAGACCCCTACTATGCTTCGGAGTCTGAGT
ACTGGACCTACCATGGGTCCCCCAAAGTGCCCCGAGCCAGAAGGTTCTCGTCTGGAGCAGAGGAGGATGATTTTGA
CCGCAGCATGCACAAGCTCCAAAGTGGAATTGGCCGGCTGATTCTGAAGGAAGAAATGAAGGCCCGGTCGAGCTCC
TATGCAGATCCCTGGACCCCTCCCCGGAGCTCCACCAGCAGCCGGGAAGCCCTGCACACAGCTGGCTATGAGATGT
CCCTCAATGGCTCCCCTCGGTCGCACTACCTGGCTGACAGTGATCCTCTCATCTCCAAATCTGCCTCCCTGCCTGC
CTACCGAAGAAATGGGCTGCACAGGACACCCAGCGCAGACCTCTTCCACTACGACAGCATGAACGCAGTCAACTGG
GGCATGCGAGAGTACAAGATCTACCCTTATGAACTGCTGCTGGTGACTACAAGAGGAAGAAACCGACTGCCCAAGG
ATGTAGACAGGACCCGTTTAGAGCGCCACCTGTCCCAGGAAGAGTTCTACCAAGTCTTTGGCATGACCATCTCTGA
GTTTGACCGGCTGGCCCTCTGGAAGAGGAATGAACTGAAGAAGCAAGCCCGGCTGTTCTAGGCAGAGGCTCTATAA
ATATATATGCATTTATATAAAGATATATGTAAAATCTCTCTACTGAAGCTCGGTATAATCCTCTCTTGTGTAATGG
GACACACTGCCTGCCATGAGACTTGCTTTTCTGTACTGTCAGGCAAGCCCACGTCATCGAGATATTTTTATGCTCC
TTACTTTCTCTTTTCTAAGTGCTGTGGGATCTGGGAAGGGATTTGAGGGGACTCTGTCCTTTCATTGGGGATCCTT
TTTATACTGAAACATCTGTCCTAACTTGAGTGCCCCAAGGTCCAACTCTCTTTCCTAAAGAAGGTGCCTGAAGAAG
TCTCTCTTCTCTCTGCTTCGTGGCCCCTTTCTTAAATTTCTAGGGCTGATGCTGACCATGTGGTTTCCACACCTTA
TTGGCCCCAGAGGGGCCCTCCCATGGGAAGATCTGCAGCAGTCTCCCCAAATCAGTGAGCACCTTTGAGCGCCCAC
GAAGAACTTTCTCAACACCCCCAATTAGGAGCTCAGTGCTCTCTTGGGGCAATGCAGTTAAAAGGGTGAGCCTCAA
ATCTAGTCATTACACCAGTCAACAGAAGTGGACAGGGCCTAGGCCTCTCCTCAGCTCCTTAACCCTCCTCCTTCTG
CCCTGGATTGTAACCTCTCCCTTGTCCAAATCTAGGATTCCTGGTAGGAAAAGGAAAAGGCCCTTCCCTTCCCTCC
ACCACTTCCAACTGGCCCCTTTGCCTGACCTGGACTTGGAGAACCAGAGGAAAAGAGAGGGAGCGGAAGTGGGAGA
TGGAGCAGGGCACCTGTTAGAATCAGAGCTGCAGGATTTCTTGGGACCCTCCTCTCTCCCTCACTGCTCCCAGCAC
CTCCTGACCCTTCCCTCTTTCAAGGAGAAGCCCATGATTGCAGCTTGTATTCTTTAGCCTTATTACAATCTATGTG
CCTGACAACTCAACACACCCCACCCCTAATCTTCCCACCACAGCTCCAACTCAACAACCACACACACAACTCTCAT
CATCCTCCAGAGAGAAAATAGGCCGTGTCTCAAAGAAAGGTTCTTGGTCTATGCCTCTGGTCTGTGGGCTGGCAGG
GCAACCATACCATACCCCCGCCAGTCCTCGGCTCCTGCTGCAAAGTTGGCCATGTTTCACAGGGAAACTTTTGGAA
GAGTGGCTGCTTATGAGATTCCAAAATGAAGTGTTGGCCAACACCGCTCATGGCCATCCTGGATTTTCCCAGTGGC
TTCCCTTCCTGCTCGCCTCCCTGAACAGGGGAGAAAGCTTAACCTCTCTTCTCCTCTCCAAACCTTTCACCTTGAA
TGGGTAATGTTTGGTGGGGGCTGTTCCTTCTTGGAGAAGCCTTGAGTCGGACCATTTTGAGATCATGGAGGAAGGA
TGAAGAAGTGAAAATGACAATAATGACTCTCAAGAGGCTGGCGATGTGACATGGCAAATGTAGAACTGACTTAAAT
TGAACAAACCCTCACTGAGCACCTCTGATGTTGAGCACCTGCTGAATACTGAGCACTGAATGGGGGAGGGGGAGGG
GAGCACGGGGTGAGTCAACCTGGGACTCGGTCTCAGGGATATGCCTACCAATAGCGGCTATCGTAAGGCATGTACC
CAAACATAACGGATGTAAGGCAGAAAGTGATCGGAGAAGGAATGAGAAAGTGTGCGTGATGTTAATGAAAAGTCAT
ATGCAGCTAGAGCAGACCCAGGAAAGCTTTCTGGAAGAGATTGCATCTGAGGAAATTCAGGAAGGATCTTTGTAGA
TTGGGGGGAGATTCTAAATTGAAGGGGTGATGGGGTGAGGGGCCAGAGGGAAGTCTGCTGTGTCTCATGTAGGAT
GTCAGCCCTCCCTGCAACTTCTCTTTTTGGCCAATGTCTTTTCACTTTCCTGACCCTTTAGAATCATCCCCAGCCA
GACGCAATCATGGAAGTTGCCTTATTGTCACTGGTTAAGAACTTGGCGAGATTGAAGGGCTTTTGTTATTGTTGTT
GGATATTTTTGTTTCCCATAAAAGCACATCATTTCAACCCTAAA

SEQ ID NO:2
>Reverse Complement of SEQ ID NO:1

TTTAGGGTTGAAATGATGTGCTTTTATGGGAAACAAAAATATCCAACAACAATAACAAAAGCCCTTCAATCTCGCC
AAGTTCTTAACCAGTGACAATAAGGCAACTTCCATGATTGCGTCTGGCTGGGGATGATTCTAAAGGGTCAGGAAAG
TGAAAAGACATTGGCCAAAAAGAGAAGTTGCAGGGAGGGCTGACATCCTACATGAGAACACAGCAGACTTCCCTCT
GGCCCCTCACCCCATCACCCCTTCAATTTAGAATCTCCCCCCAATCTACAAAGATCCTTCCTGAATTTCCTCAGAT
GCAATCTCTTCCAGAAAGCTTTCCTGGGTCTGCTCTAGCTGCATATGACTTTTCATTAACATCACGCACACTTTCT
CATTCCTTCTCCGATCACTTTCTGCCTTACATCCGTTATGTTTGGGTACATGCCTTACGATACCCGCTATTGGTAG
GCATATCCCTGAGACCGAGTCCCAGGTTGACTCACCCCGTGCTCCCCTCCCCCTCCCCCATTCAGTGCTCAGTATT

CAGCAGGTGCTCAACATCAGAGGTGCTCAGTGAGGGTTTGTTCAATTTAAGTCAGTTCTACATTTGCCATGTCACA
TCGCCAGCCTCTTGAGAGTCATTATTGTCATTTTCACTTCTTCATCCTTCCTCCATGATCTCAAAATGGTCCGACT
CAAGGCTTCTCCAAGAAGGAACAGCCCCCACCAAACATTACCCATTCAAGGTGAAAGGTTTGGAGAGGAGAAGAGA
GGTTAAGCTTTCTCCCCTGTTCAGGGAGGCGAGCAGGAAGGGAAGCCACTGGGAAAATCCAGGATGGCCATGAGCG
GTGTTGGCCAACACCTCATTTTGGAATCTCATAAGCAGCCACTCTTCCAAAAGTTTCCCTGTGAAACATGGCCAAC
TTTGCAGCAGGAGCCGAGGACTGGCGGGGGTATGGTATGGTTGCCCTGCCAGCCCACAGACCAGAGGCATAGACCA
AGAACCTTTCTTTGAGACACGGCCTATTTTCTCTCTGGAGGATGATGAGAGTTGTCTGTCTGGTTGTTCAGTTGGA
GCTCTGGTGGGAACATTAGCCCTGCGGTGTGTTGAGTTGTCAGGCACATAGATTGTAATAAGGCTAAAGAATACAA
GCTGCAATCATGGGCTTCTCCTTGAAAGAGGGAAGGGTCAGGAGGTGCTGGGAGCAGTGAGGGAGAGAGGAGGGTC
CCAAGAAATCCTGCAGCTCTGATTCTAACAGGTGCCCTGCTCCATCTCCCACTTCCGCTCCCTCTCTTTTCCTCTG
GTTCTCCAAGTCCAGGTCAGGCAAAGGGGCCAGTTGGAAGTGGTGGAGGGAAGGGAAGGGCCTTTTCCTTTTCCTA
CCAGGAATCCTAGATTTGGACAAGGGAGAGGTTACAATCCAGGGCAGAAGGAGGAGGGTTAAGGAGCTGAGGAGAG
GCCTAGCCCCTCTCCACTTCTGTTCACTGGTGTAATGACTACATTTCACGCTCACCCTTTTAACTGCATTCCCCCA
AGAGAGCACTGAGCTCCTAATTGGGGGTGTTGAGAAAGTTCTTCGTGGGCGCTCAAAGGTGCTCACTGATTTGGGG
AGACTGCTGCAGATCTTCCCATGGGAGGGCCCCTCTGGGGCCAATAAGGTGTGGAAACCACACTGGTCAGCATCAGC
CCTAGAAATTTAAGAAAGGGGCCACGAAGCAGAGAGAAGAGAGACTTCTTCAGGCACCTTCTCTTAGGAAAGAGAGT
TGGACCTTGGGGCACTCAAGTTAGGACAGATGTTTCAGTATAAAAAGGATCCCCAATAAAAGGACAGAGTCCCCTC
AAATCCCTTCCCAGATCCCACAGCACTTAGAAAAGAGAAAGTAAGGAGCATAAAAATATCTCGATGACGTGGGCTT
GCCTGACAGTACAGAAAAGCAAGTCTCATGGCAGGCAGTGTGTCCCATTACACAAGAGAGGACTATACCGAGCTTC
AGTAGAGAGATTTTACATATATCTTTATATAAATGCATATATATTTATAGAGCCTCTGCCTAGAACAGCCGGGCTT
GCTTCTTCAGTTCACTCCTCTTCCAGAGGGCCAGCCGGTCAAACTCAGAGATGGTCATGCCAAAGACTTGGTAGAA
CTCTTCCTGGGACAGGTGGCGCTCTAAACGGGTCCTGTCTACATCCTTGGGCAGTCGGTTTCCTCCTCTTGTAGTC
ACCAGCAGCAGTTCATAAGGGTAGATCTTGTACTCTCGCATGCCCCAGTTGACTGCGTTCATGCTGTCGTAGTGGA
AGAGGTCTGCGCTGGGTGTCCTGTGCAGCCCATTTCTTCGGTAGGCAGGCAGGGAGGCAGATCTTGGAGATGAGAGG
ATCACTGTCAGCCAGGTAGTGCGACCGAGGGGAGCCATTGAGGGACATCTCATAGCCAGCTGCGTGCAGGGCTTCC
CGGCTGCTGGTGGAGCTCCGGGGAGGGGTCCAGGGATCTGCATAGGAGCTCGACCGGGCCTTCATTTCTTCCTTCA
GAATCAGCCGGCCAATTCCACTTTGGAGCTTGTGCATGCTGCGGTCAAAATCATCCTCCTCTCCTCCAGACGAGAA
CCTTCTGGCTCGGGGCACTTTGGGGGACCCATGGTAGGTCCAGTACTCAGACTCCGAAGCATAGTAGGGGTCTGGC
GAGTAGATGGGACTGTACTTGGAGGTCTGGCTGATGTCTTCACTTGTTTTGCTCTTGGTTGCCGTAGACAAATCAC
CATGCCGTTTGTAGATCGGGGGTTTCCGGTAGATGTTACTGTCTCCAGCTGGGATGTGAAAGCGCTTGGGAGCCTG
GTAAGAGGTTGGAGCGGAGGACCTCACATCTAACTGGCTATGGTATGGAGAGCTCCGGCCACCCTCGGGCCCAGAG
CGGTAGTAGTGGTGAGGTGAGCGGGAGAAGGTGGGGGACATGCCCTGCCGGCTGTAGGTGGGGGAGTCTATGTACC
CCGGGCTGGAGGCCCGTCTCTGCCGGAGGTCCAGGTTCTCGTAGATGTCCTGGGAGTAGGGAGATAATGTTCCCAG
CGACTCTCCATAGCCACATCTCTCCAGCATCTCGTCGGACATGTATCTGGAATGAGGCTCATAGGAAATGAGGTCG
GGGCGTTGTACCTCGTAGATAGACTTAACCTTGGGGAGAGCCGCCAGGTCTTTGTAATTAAGGATCTCATTATCCA
CTTTAGCGCAGATGACTCGGTTGGGTGACCCAATGCTGGATCCAGGGGGTGAGATGGAGGTTTCAGATGTCCGTCT
ATGCTTTAACTTCTTCTCTGCCCGGGCTGCCTGTTTGCAGATGGGGTGCCAAACCTCGGAACCTGTGAGGTACATT
TCCTCTCCTTCGGTGAACATCTGGTGGCAGCGTACACACCTGGCACAGGTTGGGTGGTAGTGCTTCCCTCCTGCCT
CCAAGACTCTGCCACTGATGTATCGGTCACAAGTCTCACATTTAATGCCAAACTGGGCATGGTAGTCGGACTCACA
GTATGGAACACCATCCTTGCTGATATACTCCCCGGTGAGGATGACGCTGCAGGTCTGGCACTTGAAGCAGCTGACG
TGCCACTGCTTGTCCAGAGCCAGGAGTGACTGGCCGTGCTTGATCTCCTCCTTGCACCCGGCACAGTGGCTTGGTC
CACGAATCTTGATGGGCTTACTGCTGGCCATGGACTGGGAGCACGTTTGGCACACACATTCTTTACCGCTGAAGGT
CACCTTGTCTCCAATGGGGAAAGGCTTCCTGCACAAGCTGCACACGAAGCACTTGGGGTGGTAAGTGCGGCCCAGG
GCCGAGATGACTTCGCCTGTGATGAAGTCCCGGCAGCTGTCACAGCGGGTGCCATAGAGTTGCTGGTAGTCCTGGG
TCCACATGTACTCCTCGTTCTTCAACAAGAAGCCTCACTGCCCCACCCCACACCCACATACTTCACACGTCAACCA
TCTGATGTGGAAGTGGTTGTTGTGCACGCGGACCACTTCCCCTTTGCAGGTGTCTCCACAGCGGTAGCACTGGATG
ACATTGGAGCTGCCCCGTGGATTGTAAGGATTCTGCTGATAAGGAATGCTAGTGTTCATGGTGATGTCTTTGCACT
GGGTCTTTCATTCAATACGGAGGCCCCGGCTGCTTTTTAAATCTTCCGTTCTTCGAACCTCACTCATCACCTGGGG
GGTGAAAAGGCAGTCCAGTGCCAGCTCTGTATCCTCAGGTGCTCTCTCTCCCTCTGCTGTCCCCTCTCTGTCTGGG
CTGTAGCCCCTGGCCTTGAAGGCGCGTGGACTAATAGGCGCAGGTGAGAGCAAGGAGAAGGAGGCGGCAGGACACC
GGCGCCCCGGTCCTCCTGCTCCTCAGATTGGAATCCCGGGCAGAAGTGGGGTTGGCAGCGCCTGCTCGCGCGCACC
CCGGACTATTCCTGCCCAGCGGCTCCGGAGCCCAAAGGGGGTGT

【配列表】

<u>202551632100000 1.xml</u>

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/066573

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - INV. - A61K 31/713, 31/7115, 31/712, 31/7125; C12N 15/113; A61K 47/54 (2023.01)
ADD.

CPC - INV. - A61K 31/713; A61K 31/7115; A61K 31/712; A61K 31/7125; A61K 47/542; C12N 15/113; A61P 25/28; G01N 33/15 (2023.08)
ADD. - C12N 2310/11; C12N 2310/321; C12N 2310/322; C12N 2310/3515 (2023.08)

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

B. FIELDS SEARCHED

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

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
See Search History document

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2019/0241894 A1 (THE GENERAL HOSPITAL CORPORATION) 08 August 2019 (08.08.2019) entire document	1-4, 6, 78
A	WO 2020/172343 A2 (MASSACHUSETTS INSTITUTE OF TECHNOLOGY et al.) 27 August 2020 (27.08.2020) entire document	1-4, 6, 78
A	WO 2018/148501 A1 (THE ROCKEFELLER UNIVERSITY) 16 August 2018 (16.08.2018) entire document	1-4, 6, 78

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

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

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
05 September 2023	OCT 03 2023
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Taina Matos Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/066573

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
   a. ☒ forming part of the international application as filed.
   b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)),
      ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/066573

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

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

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

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

3. ☒ Claims Nos.: 5, 7-77, 79-110
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

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

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

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

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-4, 6, 78

Remark on Protest

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

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

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/066573

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

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

Group I+: claims 1-4, 6, and 78 are drawn to double stranded ribonucleic acid (dsRNA) agents for inhibiting expression of ABLIM3, and dsRNA agents that target a hotspot region of an actin binding LIM protein 3 (ABLIM3) mRNA.

The first invention of Group I+ is restricted to a double stranded ribonucleic acid (dsRNA) agent comprising a sense strand and an antisense strand forming a double stranded region, wherein the sense strand comprises SEQ ID NO: 8, and the antisense strand comprises SEQ ID NO: 143. It is believed that claims 1-4, 6, and 78 read on this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they read on SEQ ID NOs: 8 and 143.

Applicant is invited to elect additional oligonucleotide primer sets, and their respective, corresponding, SEQ ID NOs to be searched in a specific combination by paying additional fee for each set of election. An exemplary election would be a dsRNA agent having a sense stranded comprising SEQ ID NO: 9 and an antisense strand comprising SEQ ID NO: 144. Additional dsRNA agents, and their respective, corresponding, SEQ ID NOs will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that read on any additional elected inventions. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined.

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

The Groups I+ formulas do not share a significant structural element responsible for inhibiting expression of ABLIM3, requiring the selection of alternative sense and antisense strands "wherein the sense strand comprises at least 15 contiguous nucleotides differing by no more than 3 nucleotides from the nucleotide sequence of SEQ ID NO: 1 and the antisense strand comprises at least 15 contiguous nucleotides differing by no more than 3 nucleotides from the nucleotide sequence of SEQ ID NO: 2."

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features of A double stranded ribonucleic acid (dsRNA) agent for inhibiting expression of ABLIM3, wherein the dsRNA agent comprises a sense strand and an antisense strand forming a double stranded region, wherein the sense strand comprises at least 15 contiguous nucleotides and the antisense strand comprises at least 15 contiguous nucleotides; A double stranded ribonucleic acid (dsRNA) agent for inhibiting expression of ABLIM3, wherein the dsRNA agent comprises a sense strand and an antisense strand forming a double stranded region, wherein the antisense strand comprises a region of complementarity to an mRNA encoding ABLIM3, and wherein the region of complementarity comprises at least 15 contiguous nucleotides; A double stranded ribonucleic acid (dsRNA) agent for inhibiting expression of ABLIM3, wherein the dsRNA agent comprises a sense strand and an antisense strand forming a double stranded region, wherein the antisense strand comprises a region of complementarity to an mRNA encoding Ablim3, and wherein the region of complementarity comprises at least 15 contiguous nucleotides; and A dsRNA agent that targets a hotspot region of an actin binding LIM protein 3 (ABLIM3) mRNA, these shared technical features do not represent a contribution over the prior art.

Specifically, US 2019/0241894 to The General Hospital Corporation teaches a double stranded ribonucleic acid (dsRNA) agent for inhibiting expression of ABLIM3, wherein the dsRNA agent comprises a sense strand and an antisense strand forming a double stranded region, wherein the sense strand comprises at least 15 contiguous nucleotides and the antisense strand comprises at least 15 contiguous nucleotides (Thus described herein are methods of inhibiting Ablim3 using inhibitory nucleic acids that target the Ablim3 gene or mRNA, Para. [0004]; the inhibitory nucleic acid is... 40 bases in length... the inhibitory nucleic acid is double stranded, Para. [0008]; the interfering RNA can be assembled from two separate oligonucleotides, where one strand is the sense strand and the other is the antisense strand, Para. [0055]); A double stranded ribonucleic acid (dsRNA) agent for inhibiting expression of ABLIM3, wherein the dsRNA agent comprises a sense strand and an antisense strand forming a double stranded region, wherein the antisense strand comprises a region of complementarity to an mRNA encoding ABLIM3, and wherein the region of complementarity comprises at least 15 contiguous nucleotides (Thus described herein are methods of inhibiting Ablim3 using inhibitory nucleic acids that target the Ablim3 gene or mRNA, Para. [0004]; the inhibitory nucleic acid is... 40 bases in length... the inhibitory nucleic acid is double stranded, Para. [0008]; the interfering RNA can be assembled from two separate oligonucleotides, where one strand is the sense strand and the other is the antisense strand, Para. [0055]); A double stranded ribonucleic acid (dsRNA) agent for inhibiting expression of ABLIM3, wherein the dsRNA agent comprises a sense strand and an antisense strand forming a double stranded region, wherein the antisense strand comprises a region of complementarity to an mRNA encoding Ablim3, and wherein the region of complementarity comprises at least 15 contiguous nucleotides (Thus described herein are methods of inhibiting Ablim3 using inhibitory nucleic acids that target the Ablim3 gene or mRNA, Para. [0004]; the inhibitory nucleic acid is... 40 bases in length... the inhibitory nucleic acid is double stranded, Para. [0008]; the interfering RNA can be assembled from two separate oligonucleotides, where one strand is the sense strand and the other is the antisense strand, Para. [0055]).

WO 2020/172343 to Massachusetts Institute of Technology et al. teaches a dsRNA targeting a hotspot locus (the agents may be nucleic acid molecule. Exemplary nucleic acid molecules include... dsRNA, Para. [00101]; the editing involves... knocking down expression of at least one target gene in a cell.... a hot spot locus, Para. [0136]).

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

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI		テーマコード（参考）
A61P	*25/22*	*(2006.01)*	A61P	25/22	
A61P	*25/24*	*(2006.01)*	A61P	25/24	
C12N	*1/15*	*(2006.01)*	C12N	1/15	
C12N	*1/19*	*(2006.01)*	C12N	1/19	
C12N	*1/21*	*(2006.01)*	C12N	1/21	
C12N	*5/10*	*(2006.01)*	C12N	5/10	

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

（特許庁注：以下のものは登録商標）

１．ＢＲＩＪ

２．ＬＡＢＲＡＳＯＬ

３．ＰＹＴＨＯＮ

(74)代理人　100170520
弁理士　笹倉 真奈美

(72)発明者　ブラウン，カーク
アメリカ合衆国０２１４２マサチューセッツ州ケンブリッジ、ウエスト・ケンドール・ストリート６７５、ヘンリ・エイ・ターミア・スクエア、アルナイラム・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド内

(72)発明者　ズーバー，ジェフリー
アメリカ合衆国０２１４２マサチューセッツ州ケンブリッジ、ウエスト・ケンドール・ストリート６７５、ヘンリ・エイ・ターミア・スクエア、アルナイラム・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド内

Ｆターム（参考）　4B065　AA01X AA57X AA72X AA87X AA90Y AB01 AC14 AC20 BA01 CA23 CA44
4C084　AA13 MA17 MA65 NA14 ZA021 ZA022 ZA121 ZA122 ZA151 ZA152
4C086　AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 MA17 MA65 NA14 ZA02 ZA12 ZA15