

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-544162

(P2023-544162A)

(43)公表日 令和5年10月20日(2023.10.20)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/113 (2010.01)	C 1 2 N 15/113	Z Z N A 4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/7088 (2006.01)	A 6 1 K 31/7088	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 0 5	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全87頁)		

(21)出願番号	特願2023-520049(P2023-520049)	(71)出願人	595104323
(86)(22)出願日	令和3年10月1日(2021.10.1)		アイオーニス ファーマシューティカルズ, インコーポレーテッド
(85)翻訳文提出日	令和5年4月28日(2023.4.28)		Ionis Pharmaceutical
(86)国際出願番号	PCT/US2021/053107		als, Inc.
(87)国際公開番号	WO2022/072787		アメリカ合衆国カリフォルニア州920
(87)国際公開日	令和4年4月7日(2022.4.7)		10, カールズバッド, ガゼル コート
(31)優先権主張番号	63/119,448		2855
(32)優先日	令和2年11月30日(2020.11.30)	(74)代理人	100118902
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士 山本 修
(31)優先権主張番号	63/139,715	(74)代理人	100106208
(32)優先日	令和3年1月20日(2021.1.20)		弁理士 宮前 徹
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100196508
			弁理士 松尾 淳一
(31)優先権主張番号	63/086,576	(74)代理人	100163784
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 CHMP 7を調節するための化合物

(57)【要約】

細胞または対照におけるCharged Multivesicular Body Protein 7 (CHMP 7) RNAの量または活性を低減し、場合によっては、細胞または対象におけるCHMP 7タンパク質の量を低減するための化合物及び医薬組成物を提供する。かかる化合物及び医薬組成物は、Endosomal Sorting Complexes Required for Transport-Iタンパク質の異常な活性化に関連する疾患または状態を改善するのに有用である。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

12～50個の連結したヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、CHMP7核酸の等長部分に少なくとも90%相補的であり、前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾糖部分及び修飾ヌクレオシド間結合から選択される少なくとも1つの修飾を含む、前記オリゴマー化合物。

【請求項 2】

12～50個の連結したヌクレオシドからなり、配列番号10～477の核酸塩基のいずれかの少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、または20個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、修飾オリゴヌクレオチドを含む、オリゴマー化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾糖部分及び修飾ヌクレオシド間結合から選択される少なくとも1つの修飾を含む、前記オリゴマー化合物。

10

【請求項 3】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号10～477のいずれかの核酸塩基配列からなる核酸塩基配列を有する、請求項2に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 4】

12～30個の連結したヌクレオシドからなり、
配列番号1の核酸塩基3950～3983内の等長部分、
配列番号1の核酸塩基4242～4266内の等長部分、
配列番号1の核酸塩基4480～4525内の等長部分、
配列番号1の核酸塩基4534～4566内の等長部分、
配列番号1の核酸塩基5205～5232内の等長部分、
配列番号1の核酸塩基5404～5430内の等長部分、
配列番号1の核酸塩基8323～8344内の等長部分、
配列番号1の核酸塩基16927～16950内の等長部分、
配列番号1の核酸塩基17298～17340内の等長部分、または
配列番号1の核酸塩基18287～18313内の等長部分
に相補的な少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、または少なくとも20個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、修飾オリゴヌクレオチドを含む、オリゴマー化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾糖部分及び修飾ヌクレオシド間結合から選択される少なくとも1つの修飾を含む、前記オリゴマー化合物。

20

30

【請求項 5】

12～30個の連結したヌクレオシドからなり、
配列番号220、302、及び345、
配列番号21、131、191、及び465、
配列番号34、116、184、242、257、340、及び474、
配列番号55、118、202、267、372、及び422、
配列番号73、136、197、及び421、
配列番号79、160、168、230、313、331、及び464、
配列番号157、186、及び265、
配列番号128、182、及び309、
配列番号44、76、153、206、283、363、及び416、または
配列番号85、121、189、300、及び354
から選択される配列の少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、または少なくとも18個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有す

40

50

る、修飾オリゴヌクレオチドを含む、オリゴマー化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾糖部分及び修飾ヌクレオシド間結合から選択される少なくとも1つの修飾を含む、前記オリゴマー化合物。

【請求項6】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、前記修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列全体にわたって測定した場合に、配列番号1または配列番号2の核酸塩基配列に少なくとも80%、85%、90%、95%、または100%相補的である核酸塩基配列を有する、請求項1～5のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項7】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも1つの修飾ヌクレオシドを含む、請求項1～6のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

10

【請求項8】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾糖部分を含む少なくとも1つの修飾ヌクレオシドを含む、請求項7に記載のオリゴマー化合物。

【請求項9】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、二環式糖部分を含む少なくとも1つの修飾ヌクレオシドを含む、請求項8に記載のオリゴマー化合物。

【請求項10】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、2'-4'架橋を有する二環式糖部分を含む少なくとも1つの修飾ヌクレオシドを含み、前記2'-4'架橋が、 $-O-C\equiv C-$ 、及び $-O-C\equiv C-H$ (CH_3) $-$ から選択される、請求項9に記載のオリゴマー化合物。

20

【請求項11】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、非二環式修飾糖部分を含む少なくとも1つの修飾ヌクレオシドを含む、請求項7～10のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項12】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、2'-MOE修飾糖部分または2'-OMe修飾糖部分を含む非二環式修飾糖部分を含む少なくとも1つの修飾ヌクレオシドを含む、請求項11に記載のオリゴマー化合物。

【請求項13】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、糖サロゲートを含む少なくとも1つの修飾ヌクレオシドを含む、請求項7～12のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

30

【請求項14】

前記糖サロゲートが、モルホリノ、修飾モルホリノ、PNA、THP、及びF-HNAのいずれかから選択される、請求項13に記載のオリゴマー化合物。

【請求項15】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、二環式修飾糖部分を含まない、請求項1～8または11～14のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項16】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、ギャップマーである、請求項1～15のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

40

【請求項17】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、5～12個の連結した2'-デオキシヌクレオシドからなるデオキシ領域を含む、請求項1～16のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項18】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、5～12個の連結した2'-β-D-デオキシヌクレオシドからなるデオキシ領域を含む、請求項1～16のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項19】

前記デオキシ領域が、6、7、8、9、10、または6～10個の連結したヌクレオシドからなる、請求項17または請求項18に記載のオリゴマー化合物。

50

【請求項 20】

前記デオキシ領域に直接隣接した各ヌクレオシドが、修飾糖部分を含む、請求項 17～19 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 21】

前記デオキシ領域が、5'側に1～6個の連結した5'外部領域ヌクレオシドからなる5'外部領域、及び3'側に1～6個の連結した3'外部領域ヌクレオシドからなる3'外部領域が配置された、請求項 17～20 のいずれかに記載のオリゴマー化合物であって、前記5'外部領域の最も3'側のヌクレオシドが、修飾糖部分を含み、かつ前記3'外部領域の最も5'側のヌクレオシドが、修飾糖部分を含む、前記オリゴマー化合物。

10

【請求項 22】

前記3'外部領域の各ヌクレオシドが、修飾糖部分を含む、請求項 21 に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 23】

前記5'外部領域の各ヌクレオシドが、修飾糖部分を含む、請求項 21 または請求項 22 に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 24】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、1～7個の連結した5'領域ヌクレオシドからなる5'領域、6～10個の連結した中央領域ヌクレオシドからなる中央領域、及び1～7個の連結した3'領域ヌクレオシドからなる3'領域を含み、前記5'領域ヌクレオシドの各々及び前記3'領域ヌクレオシドの各々が、修飾糖部分を含み、前記中央領域ヌクレオシドの各々が、2'-β-D-デオキシフラノシル糖部分を含む、請求項 1～23 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

20

【請求項 25】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、5個の連結した5'領域ヌクレオシドからなる5'領域、10個の連結した中央領域ヌクレオシドからなる中央領域、及び5個の連結した3'領域ヌクレオシドからなる3'領域を含み、前記5'領域ヌクレオシドの各々及び前記3'領域ヌクレオシドの各々が、2'-MOEヌクレオシドであり、前記中央領域ヌクレオシドの各々が、2'-β-D-デオキシヌクレオシドである、請求項 24 に記載のオリゴマー化合物。

30

【請求項 26】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも1つの修飾ヌクレオシド間結合を含む、請求項 1～25 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 27】

前記修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合が、修飾ヌクレオシド間結合である、請求項 26 に記載のオリゴマー化合物。

40

【請求項 28】

少なくとも1つの修飾ヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、請求項 26 または請求項 27 に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 29】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも1つのホスホジエステルヌクレオシド間結合を含む、請求項 26 または請求項 28 に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 30】

各ヌクレオシド間結合が、ホスホジエステルヌクレオシド間結合またはホスホロチオエートヌクレオシド間結合のいずれかである、請求項 26、28、または29のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

50

【請求項 3 1】

各修飾ヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、請求項 2 7 に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 3 2】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、ヌクレオシド間結合モチーフ $s o o o o s s s s s s s s s s o o s s$ を有する請求項 2 6 に記載のオリゴヌクレオチド化合物であって、 $s =$ ホスホロチオエートヌクレオシド間結合及び $o =$ ホスホジエステルヌクレオシド間結合である、前記オリゴヌクレオチド化合物。

【請求項 3 3】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの修飾核酸塩基を含む、請求項 1 ～ 3 2 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

10

【請求項 3 4】

前記修飾核酸塩基が、5-メチルシトシンである、請求項 3 3 に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 3 5】

各シトシンが、5-メチルシトシンである、請求項 3 4 に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 3 6】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、1 2 ～ 3 0、1 2 ～ 2 2、1 2 ～ 2 0、1 4 ～ 1 8、1 4 ～ 2 0、1 5 ～ 1 7、1 5 ～ 2 5、1 6 ～ 1 8、1 6 ～ 2 0、1 7 ～ 2 0、1 8 ～ 2 0 または 1 8 ～ 2 2 個の連結したヌクレオシドからなる、請求項 1 ～ 3 5 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

20

【請求項 3 7】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、1 6、1 7、1 8、1 9、または 2 0 個の連結したヌクレオシドからなる、請求項 1 ～ 3 6 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 3 8】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、2 0 個の連結したヌクレオシドからなる、請求項 1 ～ 3 5 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 3 9】

前記修飾オリゴヌクレオチドからなる、請求項 1 ～ 3 8 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

30

【請求項 4 0】

コンジュゲート基を含む、請求項 1 ～ 3 8 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 4 1】

前記コンジュゲート基が、コンジュゲート部分及びコンジュゲートリンカーを含む、請求項 4 0 に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 4 2】

前記コンジュゲートリンカーが、単結合からなる、請求項 4 1 に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 4 3】

前記コンジュゲートリンカーが、切断可能である、請求項 4 1 または請求項 4 2 に記載のオリゴマー化合物。

40

【請求項 4 4】

前記コンジュゲートリンカーが、1 ～ 3 個のリンカーヌクレオシドを含む、請求項 4 1 または請求項 4 3 に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 4 5】

前記コンジュゲートリンカーが、いずれのリンカーヌクレオシドも含まない、請求項 4 1 ～ 4 3 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 4 6】

前記コンジュゲート基が、前記修飾オリゴヌクレオチドの 5' 末端で前記修飾オリゴヌクレオチドに結合される、請求項 4 0 ～ 4 5 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

50

【請求項 47】

前記コンジュゲート基が、前記修飾オリゴヌクレオチドの3'末端で前記修飾オリゴヌクレオチドに結合される、請求項40～45のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 48】

前記コンジュゲート基が、脂質を含む、請求項40～47のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 49】

前記コンジュゲート基が、細胞標的化部分を含む、請求項40～47のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 50】

さらに、末端基を含む、請求項1～49のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

10

【請求項 51】

一本鎖オリゴマー化合物である、請求項1～49のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 52】

細胞のCHMP7 RNAの量を低減することが可能である、請求項1～51のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 53】

前記オリゴマー化合物の前記修飾オリゴヌクレオチドが、ナトリウム、カリウム、カルシウム、及びマグネシウムから選択される1つ以上のカチオンを含む医薬的に許容される塩である、請求項1～52のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

20

【請求項 54】

第一のオリゴマー化合物、及び第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物を含むオリゴマー二重鎖であって、前記第一のオリゴマー化合物が、請求項1～53のいずれかに記載のオリゴマー化合物である、前記オリゴマー二重鎖。

【請求項 55】

アンチセンス化合物を含むアンチセンス剤であって、前記アンチセンス化合物が、請求項1～53のいずれかに記載のオリゴマー化合物または請求項54に記載のオリゴマー二重鎖である、前記アンチセンス剤。

【請求項 56】

請求項54に記載のオリゴマー二重鎖である、請求項55に記載のアンチセンス剤。

30

【請求項 57】

請求項55または請求項56に記載のアンチセンス剤であって、
RNase Hの活性化によりCHMP7核酸の量を低減することが可能なRNase H剤、または
RISC/Ago2の活性化によりCHMP7核酸の量を低減することが可能なRNAi剤である、前記アンチセンス剤。

【請求項 58】

コンジュゲート基を含む、請求項55～57のいずれかに記載のアンチセンス剤であって、前記コンジュゲート基が、細胞標的化部分を含む、前記アンチセンス剤。

40

【請求項 59】

請求項1～53のいずれかに記載のオリゴマー化合物、請求項54に記載のオリゴマー二重鎖、または請求項55～58のいずれかに記載のアンチセンス剤、及び医薬的に許容される希釈剤を含む医薬組成物。

【請求項 60】

前記医薬的に許容される希釈剤が、人工CSF (aCSF) またはリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) である、請求項59に記載の医薬組成物。

【請求項 61】

前記オリゴマー化合物、オリゴマー二重鎖、またはアンチセンス剤、及び人工CSF (aCSF) から本質的になる、請求項60に記載の医薬組成物。

50

【請求項 6 2】

前記オリゴマー化合物、オリゴマー二重鎖、またはアンチセンス剤、及びリン酸緩衝生理食塩水（PBS）から本質的になる、請求項 6 0 に記載の医薬組成物。

【請求項 6 3】

請求項 1 ～ 5 3 のいずれかに記載のオリゴマー化合物のキラル濃縮集団であって、特定の立体化学的配置を有する少なくとも 1 つの特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含むオリゴマー化合物について濃縮されている、前記集団。

【請求項 6 4】

（Sp）配置を有する少なくとも 1 つの特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含むオリゴマー化合物について濃縮されている、請求項 6 3 に記載のキラル濃縮集団。

【請求項 6 5】

（Rp）配置を有する少なくとも 1 つの特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含むオリゴマー化合物について濃縮されている、請求項 6 3 に記載のキラル濃縮集団。

【請求項 6 6】

各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合において特定の独立して選択される立体化学的配置を有するオリゴマー化合物について濃縮されている、請求項 6 3 に記載のキラル濃縮集団。

【請求項 6 7】

各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合において（Sp）配置を有するオリゴマー化合物について濃縮されているか、または各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合において（Rp）配置を有する修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている、請求項 6 6 に記載のキラル濃縮集団。

【請求項 6 8】

1 つの特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合において（Rp）配置を有し、残りのホスホロチオエートヌクレオシド間結合の各々において（Sp）配置を有するオリゴマー化合物について濃縮されている、請求項 6 6 に記載のキラル濃縮集団。

【請求項 6 9】

5' から 3' の方向に、Sp 配置、Sp 配置、及び Rp 配置で少なくとも 3 つの連続するホスホロチオエートヌクレオシド間結合を有するオリゴマー化合物について濃縮されている、請求項 6 6 に記載のキラル濃縮集団。

【請求項 7 0】

請求項 1 ～ 5 3 のいずれかに記載のオリゴマー化合物の集団であって、前記修飾オリゴヌクレオチドのホスホロチオエートヌクレオシド間結合のすべてがステレオランダムである、前記集団。

【請求項 7 1】

請求項 6 3 ～ 7 0 のいずれかに記載のオリゴマー化合物の集団及び医薬的に許容される希釈剤を含む医薬組成物。

【請求項 7 2】

前記医薬的に許容される希釈剤が、人工 CSF（aCSF）またはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）である、請求項 7 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 7 3】

前記オリゴマー化合物の集団及び人工 CSF（aCSF）から本質的になる、請求項 7 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 7 4】

前記オリゴマー化合物の集団及び PBS から本質的になる、請求項 7 2 に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

配列表

10

20

30

40

50

本出願は、電子形式の配列表とともに出願されている。当該配列表は、2021年9月28日に作成された124KbのサイズのBIOL0405WOSEQ_ST25.txtという名称のファイルとして提供される。該配列表の電子形式の情報は、参照により全体として本明細書に組み込まれる。

【0002】

細胞または対照におけるCharged Multivesicular Body Protein 7 (CHMP7) RNAの量または活性を低減し、場合によっては、細胞または対象におけるCHMP7タンパク質の量を低減するための化合物及び医薬組成物を提供する。かかる化合物及び医薬組成物は、Endosomal Sorting Complexes Required for Transport-IIIタンパク質の異常な活性化に関連する疾患または状態を緩和するのに有用である。

10

【背景技術】

【0003】

核膜は、真核細胞の核と細胞質の分離を維持する重要な役割を果たす。欠陥のある核膜は、細胞死、ゲノムの完全性の損失、及び疾患を引き起こす可能性がある。これらの欠陥は、核膜の非効率的な封止及び／または核膜孔複合体の不適切な組み立てのいずれかに関与し得る (Thaller, D. J., et al., bioRxiv, 2020, 2020.2005.2004.074880, doi:10.1101/2020.05.05.074880)。

【0004】

20

真核細胞の分裂の過程で、核膜は、Endosomal Sorting Complexes Required for Transport-III (ESCRT-III) タンパク質が関与する複雑なプロセスを使用して分解され、再形成される。これらのESCRT-IIIタンパク質は、哺乳類の核膜の穴の封止及び核膜孔複合体 (NPC) の品質管理の確保に関与している。Charged Multivesicular Body Protein 7 (CHMP7) は、ESCRTII/IIIタンパク質であり、これは、さらなるESCRT-IIIタンパク質を核膜の穴に動員すること、及び核孔を封止して核と細胞質の区画化を保護することに関与している (Gu, M., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 2017, 114, E2166-e2175, doi:10.1073/pnas.1613916114)。CHMP7オルソログChm7を使用した酵母での試験により、CHMP7の活性化を制御することが、核膜での機能獲得の役割を担うタンパク質の抑制にとって欠かせないことが示されている。かかるCHMP7の過剰活性化が、核膜孔の不適切な封止及び核膜孔複合体の組み立ての欠陥につながる可能性がある (Thaller, D. J., et al., Elife, 2019, 8, doi:10.7554/elife.45284, Webster, B. M., et al., EMBO 2016, 25, 10.15252/emboj.201694574)。CHMP7は、家族性及び孤発性筋萎縮性側索硬化症 (ALS)、前頭側頭型認知症 (FTD)、ならびにおそらくはヌクレオポリンの減少及びTDP-43の病理に関連する他の神経変性疾患に対する治療標的候補として特定されている (Coyne, A. N., et al., Science Transl. Med., 2021, 13 (604): eabe1923, doi:10.1126/scitranslmed.abe1923. PMID: 34321318)。

30

40

【0005】

現在、核膜の孔の不適切な封止、欠陥のある核膜、または欠陥のある核膜孔複合体をもたらすESCRT-IIIタンパク質の過剰活性化に関連する疾患を治療するためにふさわしい選択肢が不足している。従って、かかる疾患を治療するための化合物及び医薬組成物を提供することが本明細書の目的である。

【発明の概要】

【0006】

CHMP7 RNAの量または活性を低減し、ある特定の実施形態では、細胞または動

50

物におけるCHMP7タンパク質の量を低減するための化合物及び医薬組成物を本明細書に提供する。ある特定の実施形態では、該動物は、CHMP7の過剰活性化に関連する疾患または障害を有する。ある特定の実施形態では、該動物は、CHMP7タンパク質活性の過剰活性化に関連する疾患または障害を有する。ある特定の実施形態では、該動物は、核膜の欠陥に関連する疾患または状態を有する。ある特定の実施形態では、該核膜の欠陥は、核孔の閉鎖における欠陥を含む。ある特定の実施形態では、該動物は、核膜孔複合体の組み立てにおける欠陥に関連する疾患または状態を有する。ある特定の実施形態では、CHMP7 RNAの発現を低減するために化合物が有用である。ある特定の実施形態では、CHMP7 RNAの発現を低減するために有用な化合物は、オリゴマー化合物である。ある特定の実施形態では、CHMP7 RNA及び／またはCHMP7タンパク質の発現を低減するために有用な化合物は、修飾オリゴヌクレオチドである。

10

【発明を実施するための形態】

【0007】

前述の概要及び以下の詳細な説明はいずれも、例示及び説明にすぎず、制限するものではないことを理解されたい。本明細書において、単数形の使用は、別途明確に記述されない限り、複数形を含む。本明細書で使用される、「または」の使用は、別途定めのない限り、「及び／または」を意味する。さらに、「を含めて」という用語、ならびに「含む」及び「含まれる」等の他の形態の使用は、限定的なものではない。また、「要素」または「成分」等の用語は、別途明確に記述されない限り、1つのユニットを含む要素及び成分、ならびに2つ以上のサブユニットを含む要素及び成分の両方を包含する。

20

【0008】

本明細書で使用される節の見出しは、構成目的のみのためであり、記載される主題を限定するものと解釈されるべきではない。特許、特許出願、記事、書籍、論文、ならびにGenBank、ENSEMBL、及びNCBI参照配列レコードが挙げられるがこれらに限定されない本出願において引用されるすべての文書または文書の一部は、本明細書で論じられる文書の一部に対して、かつそれらの全体において、参照により本明細書に明確に組み込まれる。

【0009】

定義

具体的な定義が与えられない限り、本明細書に記載される分析化学、合成有機化学、ならびに医化学及び製薬化学に関連して用いられる命名法、ならびにそれらの手順及び技法は、周知のものであり、当技術分野で一般的に使用されているものである。容認される場合、本開示の全体を通じて参照されるすべての特許、特許出願、特許出願公開、ならびに他の刊行物及び他のデータは、参照により全体として本明細書に組み込まれる。

30

【0010】

別段の指示がない限り、下記の用語は、以下の意味を有する。

【0011】

定義

本明細書で使用される、「2'-デオキシヌクレオシド」は、2'-H(H)デオキシフラノシル糖部分を含むヌクレオシドを意味する。ある特定の実施形態では、2'-デオキシヌクレオシドは、2'-β-D-デオキシヌクレオシドであり、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を含み、これは、天然に存在するデオキシリボ核酸(DNA)に見られるようなβ-Dリボシル配置を有する。ある特定の実施形態では、2'-デオキシヌクレオシドは、修飾核酸塩基を含む場合もあれば、RNA核酸塩基(ウラシル)を含む場合もある。

40

【0012】

本明細書で使用される、「2'-MOE」とは、フラノシル糖部分の2'-OH基の代わりに2'-OCH₂CH₂OCH₃基を意味する。「2'-MOE修飾糖部分」とは、フラノシル糖部分の2'-OH基の代わりに2'-OCH₂CH₂OCH₃基を有する糖部分を意味する。別段の指示がない限り、2'-MOE修飾糖部分は、β-D-リボシル配置に

50

ある。「MOE」とは、O-メトキシエチルを意味する。

【0013】

本明細書で使用される、「2'-MOEヌクレオシド」とは、2'-MOE修飾糖部分を含むヌクレオシドを意味する。

【0014】

本明細書で使用される、「2'-OMe」とは、フラノシル糖部分の2'-OH基の代わりに2'-OC₂H₅基を意味する。「2'-O-メチル修飾糖部分」または「2'-OMe修飾糖部分」とは、フラノシル糖部分の2'-OH基の代わりに2'-OC₃H₇基を有する糖部分を意味する。別段の指示がない限り、2'-OMe修飾糖部分は、β-D-リボシル配置にある。

10

【0015】

本明細書で使用される、「2'-OMeヌクレオシド」とは、2'-OMe修飾糖部分を含むヌクレオシドを意味する。

【0016】

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

【0017】

本明細書で使用される、「5-メチルシトシン」は、5位に結合したメチル基で修飾されたシトシンを意味する。5-メチルシトシンは、修飾核酸塩基である。

20

【0018】

本明細書で使用される、疾患または状態に関する「緩和する」とは、該疾患または状態の少なくとも1つの症状における、治療をしない場合の同じ症状と比較した改善を意味する。ある特定の実施形態では、緩和とは、該症状の重症度もしくは頻度の低下、または症状の発症の遅延もしくは重症度もしくは頻度における進行の遅延である。

【0019】

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

30

【0020】

本明細書で使用される、「アンチセンス剤」とは、アンチセンス化合物及び任意に1つ以上のさらなる特徴、例えば、センス化合物を意味する。

【0021】

本明細書で使用される、「アンチセンス化合物」とは、アンチセンスオリゴヌクレオチド及び任意に1つ以上のさらなる特徴、例えば、コンジュゲート基を意味する。本明細書で使用される、「アンチセンス化合物」とは、少なくとも1つのアンチセンス活性を達成することが可能なオリゴマー化合物を意味する。

【0022】

本明細書で使用される、「センス化合物」とは、センスオリゴヌクレオチド及び任意に1つ以上のさらなる特徴、例えば、コンジュゲート基を意味する。

40

【0023】

本明細書で使用される、「アンチセンスオリゴヌクレオチド」とは、標的核酸にハイブリダイズすることが可能でありかつ少なくとも1つのアンチセンス活性が可能なアンチセンス化合物のオリゴヌクレオチド部分を含めたオリゴヌクレオチドを意味する。アンチセンスオリゴヌクレオチドとしては、アンチセンスRNAiオリゴヌクレオチド及びアンチセンスRNAse Hオリゴヌクレオチドが挙げられるがこれらに限定されない。

【0024】

本明細書で使用される、「センスオリゴヌクレオチド」とは、アンチセンスオリゴヌク

50

レオチドにハイブリダイズすることが可能なセンス化合物のオリゴヌクレオチド部分を含めたオリゴヌクレオチドを意味する。

【0025】

本明細書で使用される、「二環式ヌクレオシド」または「BNA」とは、二環式糖部分を含むヌクレオシドを意味する。

【0026】

本明細書で使用される、「二環式糖」または「二環式糖部分」とは、2つの環を含む修飾された糖部分を意味し、ここでは、第一の環の原子のうちの2つを結合する架橋を介して第二の環が形成され、それによって二環式構造が形成される。ある特定の実施形態では、該二環式糖部分の第一の環は、フラノシル部分である。ある特定の実施形態では、該フラノシル糖部分は、リボシル部分である。ある特定の実施形態では、該二環式糖部分は、フラノシル部分を含まない。

10

【0027】

本明細書で使用される、「脳脊髄液」または「CSF」とは、脳及び脊髄の周囲の空間を満たす流体を意味する。「人工脳脊髄液」または「aCSF」とは、脳脊髄液のある特定の特性を有する調製または製造された流体を意味する。

【0028】

本明細書で使用される、「切断可能な部分」は、生理学的条件下で、例えば、細胞、動物、またはヒトの内部で切断される結合または原子団を意味する。

【0029】

20

本明細書で使用される、オリゴヌクレオチドに関する「相補的」とは、当該オリゴヌクレオチド及び別の核酸の核酸塩基配列を反対の向きでアラインした場合に、該オリゴヌクレオチドまたはその1つ以上の部分の核酸塩基の少なくとも70%と、該別の核酸またはその1つ以上の部分の核酸塩基が、互いに水素結合が可能であることを意味する。本明細書で使用される、「相補的な核酸塩基」とは、互いに水素結合を形成することが可能な核酸塩基を意味する。相補的な核酸塩基対としては、アデニン(A)とチミン(T)、アデニン(A)とウラシル(U)、シトシン(C)とグアニン(G)、5-メチルシトシン(mC)とグアニン(G)が挙げられる。相補的オリゴヌクレオチド及び／または標的核酸は、各ヌクレオシドにおける核酸塩基相補性を有することを必要としない。むしろ、いくつかのミスマッチは許容される。本明細書で使用される、オリゴヌクレオチド、またはその部分に関する「完全に相補的」または「100%相補的」とは、該オリゴヌクレオチド、またはその部分が別のオリゴヌクレオチドまたは標的核酸に対して、これら2つのオリゴヌクレオチドのうちの短い方の各核酸塩基において、または該オリゴヌクレオチドが同じ長さである場合には各ヌクレオシドにおいて相補的であることを意味する。

30

【0030】

本明細書で使用される、「コンジュゲート基」とは、オリゴヌクレオチドに直接または間接的に結合した原子団を意味する。コンジュゲート基は、コンジュゲート部分及び該コンジュゲート部分を該オリゴヌクレオチドに結合するコンジュゲートリンカーを含む。

【0031】

本明細書で使用される、「コンジュゲートリンカー」とは、コンジュゲート部分をオリゴヌクレオチドにつなげる単結合、または少なくとも1つの結合を含む原子団を意味する。

40

【0032】

本明細書で使用される、「コンジュゲート部分」とは、コンジュゲートリンカーを介してオリゴヌクレオチドに結合した原子団を意味する。

【0033】

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

【0034】

50

本明細書で使用される、「c E t」とは、リボシル糖部分の2'OH基の代わりに4'から2'への架橋を意味し、ここでは、該架橋は、式4'-CH(C₃H)₃-O-2'を有し、該架橋のメチル基は、S配置をとる。「c E t糖部分」とは、リボシル糖部分の2'OH基の代わりに4'から2'への架橋を有する二環式糖部分であり、ここでは、該架橋は、式4'-CH(C₃H₃)-O-2'を有し、該架橋のメチル基は、S配置をとる。「c E t」とは、拘束エチルを意味する。

【0035】

本明細書で使用される、「c E tヌクレオシド」とは、c E t糖部分を含むヌクレオシドを意味する。

【0036】

本明細書で使用される、「キラル濃縮集団」とは、同一の分子式の複数の分子を意味し、ここでは、特定のキラル中心で特定の立体化学配置を含む該集団内の分子の数またはパーセンテージは、該特定のキラル中心がステレオランダムであった場合に該集団内の同じ特定のキラル中心で同じ特定の立体化学配置を含むことが予想される分子の数またはパーセンテージよりも大きい。各分子内に複数のキラル中心を有する分子のキラル濃縮集団は、1つ以上のステレオランダムなキラル中心を含み得る。ある特定の実施形態では、該分子は、修飾オリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、該分子は、修飾オリゴヌクレオチドを含む化合物である。

【0037】

本明細書で使用される、ヌクレオシド間結合に関する「キラル制御された」とは、その結合におけるキラリティーが、特定の立体化学配置に関して濃縮されていることを意味する。

【0038】

本明細書で使用される、「デオキシ領域」とは、5~12個の連続するヌクレオチドの領域を意味し、ここで、当該ヌクレオチドの少なくとも70%は2'-β-D-デオキシヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、各ヌクレオチドは、2'-β-D-デオキシヌクレオチド、二環式ヌクレオチド、及び2'-置換ヌクレオチドから選択される。ある特定の実施形態では、デオキシ領域は、RNase H活性を支援する。ある特定の実施形態では、デオキシ領域は、ギャップマーのギャップまたは内部領域である。

【0039】

本明細書で使用される、「ギャップマー」とは、1つ以上のヌクレオチドを有する外部領域の間に配置される、RNase Hの切断を支援する複数のヌクレオチドを有する内部領域を含む修飾オリゴヌクレオチドを意味し、該内部領域を含むヌクレオチドは、該外部領域を含むヌクレオチド（複数可）とは化学的に異なる。該内部領域は、「ギャップ」と称される場合があり、該外部領域は、「ウイング」または「ウイングセグメント」と称される場合がある。ある特定の実施形態では、該内部領域は、デオキシ領域である。該内部領域またはギャップの位置は、該内部領域のヌクレオチドの順序を指し、該内部領域の5'末端から数えられる。別段の指示がない限り、「ギャップマー」は、糖モチーフを指す。ある特定の実施形態では、該ギャップの各ヌクレオチドは、2'-β-D-デオキシヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、該ギャップは、該ギャップの1、2、3、4、または5位に1つの2'-置換ヌクレオチドを含み、該ギャップのヌクレオチドの残りは、2'-β-D-デオキシヌクレオチドである。本明細書で使用される、「MOEギャップマー」という用語は、2'-β-D-デオキシヌクレオチドを含むギャップ及び2'-MOEヌクレオチドを含むウイングを有するギャップマーを示す。本明細書で使用される、「混合ウイングギャップマー」という用語は、少なくとも2つの異なる糖修飾を含む修飾ヌクレオチドを含むウイングを有するギャップマーを示す。別段の指示がない限り、ギャップマーは、1つ以上の修飾ヌクレオチド間結合及び／または修飾核酸塩基を含んでもよく、かかる修飾は、必ずしも該糖修飾のギャップマーパターンに従うとは限らない。

【0040】

本明細書で使用される、「ホットスポット領域」とは、標的核酸の量または活性のオリゴマー化合物媒介性の低減に適した標的核酸上の核酸塩基の範囲である。

【0041】

本明細書で使用される、「ハイブリダイゼーション」とは、相補的オリゴヌクレオチド及び／または核酸の対合またはアニーリングを意味する。特定のメカニズムに限定されないが、ハイブリダイゼーションの最も一般的なメカニズムは、相補的核酸塩基の間のワトソン・クリック、フーグスティーン、または逆フーグスティーン水素結合であり得る水素結合に關与する。

【0042】

本明細書で使用される、「ヌクレオシド間結合」とは、オリゴヌクレオチド中の連続するヌクレオシド間の共有結合を意味する。本明細書で使用される、「修飾ヌクレオシド間結合」は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合以外の任意のヌクレオシド間結合を意味する。「ホスホロチオエートヌクレオシド間結合」または「PSヌクレオシド間結合」は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合の非架橋酸素原子のうちの1つが硫黄原子で置き換えられた修飾ヌクレオシド間結合である。

10

【0043】

本明細書で使用される、「リンカーヌクレオチド」とは、オリゴヌクレオチドをコンジュゲート部分に直接または間接的にいずれかで連結するヌクレオチドを意味する。リンカーヌクレオチドは、オリゴマー化合物のコンジュゲートリンカー内に位置する。リンカーヌクレオチドは、それらが該オリゴヌクレオチドと連続していても、該オリゴマー化合物のオリゴヌクレオチド部分の一部とは見なされない。

20

【0044】

本明細書で使用される、「非二環式修飾糖部分」とは、第二の環を形成するための糖の2つの原子間に架橋を形成しない、置換基等の修飾を含む修飾糖部分を意味する。

【0045】

本明細書で使用される、「ミスマッチ」または「非相補的」とは、第一及び第二のオリゴヌクレオチドがアラインされる場合に、第二のオリゴヌクレオチドまたは標的核酸の対応する核酸塩基と相補的ではない第一のオリゴヌクレオチドの核酸塩基を意味する。

【0046】

本明細書で使用される、「モチーフ」とは、オリゴヌクレオチドにおける修飾されていない及び／または修飾された糖部分、核酸塩基、及び／またはヌクレオシド間結合のパターンを意味する。

30

【0047】

本明細書で使用される、「核酸塩基」とは、非修飾核酸塩基または修飾核酸塩基を意味する。本明細書で使用される、「非修飾核酸塩基」は、アデニン（A）、チミン（T）、シトシン（C）、ウラシル（U）、またはグアニン（G）である。本明細書で使用される、「修飾核酸塩基」は、少なくとも1つの非修飾核酸塩基と対合することが可能な非修飾A、T、C、U、またはG以外の原子団である。「5-メチルシトシン」は、修飾核酸塩基である。ユニバーサル塩基とは、該5種類の非修飾核酸塩基のいずれか1つと対合することのできる修飾核酸塩基である。本明細書で使用される、「核酸塩基配列」は、任意の糖またはヌクレオシド間結合修飾とは無関係の標的核酸またはオリゴヌクレオチドにおける連続する核酸塩基の順序を意味する。

40

【0048】

本明細書で使用される、「ヌクレオチド」は、核酸塩基及び糖部分を含む化合物、または化合物の断片を意味する。該核酸塩基及び糖部分は、各々独立して、非修飾であるか、または修飾されている。本明細書で使用される、「修飾ヌクレオチド」とは、修飾核酸塩基及び／または修飾糖部分を含むヌクレオチドを意味する。修飾ヌクレオチドとしては、核酸塩基を欠く脱塩基ヌクレオチドが挙げられる。「連結ヌクレオチド」とは、連続した配列においてつながっているヌクレオチドである（すなわち、連結されているヌクレオチド間に追加のヌクレオチドが存在しない）。

50

【0049】

本明細書で使用される、「オリゴマー化合物」とは、オリゴヌクレオチド、及び任意に、コンジュゲート基または末端基等の1つ以上のさらなる特徴を意味する。オリゴマー化合物は、第一のオリゴマー化合物に相補的な第二のオリゴマー化合物と対合してもよく、不對でもよい。「一本鎖オリゴマー化合物」は、不對オリゴマー化合物である。「オリゴマー二重鎖」という用語は、相補的核酸塩基配列を有する2つのオリゴマー化合物によって形成される二重鎖を意味する。オリゴマー二重鎖の各オリゴマー化合物は、「二重鎖オリゴマー化合物」と呼ばれることがある。

【0050】

本明細書で使用される、「オリゴヌクレオチド」とは、ヌクレオシド間結合を介して接続した連結ヌクレオシドの鎖を意味し、各ヌクレオシド及びヌクレオシド間結合は修飾されていても非修飾でもよい。別段の指示がない限り、オリゴヌクレオチドは8～50個の連結ヌクレオシドからなる。本明細書で使用される、「修飾オリゴヌクレオチド」とは、少なくとも1つのヌクレオシドまたはヌクレオシド間結合が修飾されているオリゴヌクレオチドを意味する。本明細書で使用される、「非修飾オリゴヌクレオチド」とは、いずれのヌクレオシド修飾またはヌクレオシド間修飾も含まないオリゴヌクレオチドを意味する。

10

【0051】

本明細書で使用される、「医薬的に許容される担体または希釈剤」とは、対象への投与に使用するのに適した任意の物質を意味する。ある特定のかかる担体により、医薬組成物を、対象による経口摂取用の、例えば、錠剤、丸剤、糖衣錠、カプセル、液体、ゲル、シロップ、スラリー、懸濁液、及びロゼンジとして製剤化することが可能になる。ある特定の実施形態では、医薬的に許容される担体または希釈剤は、滅菌水、滅菌生理食塩水、滅菌緩衝液、または滅菌人工脳脊髄液である。

20

【0052】

本明細書で使用される、「医薬的に許容される塩」とは、化合物の生理学的及び医薬的に許容される塩を意味する。医薬的に許容される塩は、親化合物の所望の生物学的活性を保持し、かつそれに望ましくない毒物学的影響を与えない。

【0053】

本明細書で使用される、「医薬組成物」とは、対象への投与に適した物質の混合物を意味する。例えば、医薬組成物は、オリゴマー化合物及び滅菌水溶液を含み得る。ある特定の実施形態では、医薬組成物は、ある特定の細胞株における遊離状態での取り込み(free uptake)アッセイにおいて活性を示す。

30

【0054】

本明細書で使用される、「量または活性の低減」とは、未処理または対照サンプルにおける転写発現または活性と比較した転写発現または活性の低減または遮断を指し、必ずしも転写発現または活性の完全な除去を示すものではない。

【0055】

本明細書で使用される、「RNA」とは、RNA転写物を意味し、別様に明記されない限り、pre-mRNA及び成熟mRNAを含む。

40

【0056】

本明細書で使用される、「RNAi剤」とは、少なくとも部分的に、RISCまたはAGO2を介して、標的核酸及び／または標的核酸によってコードされるタンパク質を調節するように作用するアンチセンス剤を意味する。RNAi剤としては、二本鎖siRNA、一本鎖RNA(ssRNA)、及びマイクロRNA模倣体を含めたマイクロRNAが挙げられるがこれらに限定されない。RNAi剤は、コンジュゲート基及び／または末端基を含んでもよい。ある特定の実施形態では、RNAi剤は、標的核酸の量及び／または活性を調節する。RNAi剤という用語は、RNase Hを介して作用するアンチセンス剤は除外する。

【0057】

50

本明細書で使用される、「RNAi化合物」とは、少なくとも部分的に、RISCまたはAgo2を介して、標的核酸及び／または標的核酸によってコードされるタンパク質を調節するように作用するアンチセンス化合物を意味する。RNAi化合物としては、二本鎖siRNA、一本鎖RNA(ssRNA)、及びマイクロRNA模倣体を含めたマイクロRNAが挙げられるがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、RNAi化合物は、標的核酸の量、活性、及び／またはスプライシングを調節する。RNAi化合物という用語は、RNase Hを介して作用するアンチセンス化合物は除外する。

【0058】

本明細書で使用される、「RNase H剤」とは、RNase Hを介して作用して、標的核酸及び／または標的核酸によってコードされるタンパク質を調節するアンチセンス剤を意味する。ある特定の実施形態では、RNase H剤は、一本鎖である。ある特定の実施形態では、RNase H剤は、二本鎖である。RNase H化合物は、コンジュゲート基及び／または末端基を含み得る。ある特定の実施形態では、RNase H剤は、標的核酸の量及び／または活性を調節する。RNase H剤という用語は、主にRISC/Ago2を介して作用するアンチセンス剤を除外する。

【0059】

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

【0060】

本明細書で使用される、「標準インビトロアッセイ」とは、実施例1に記載されるアッセイ及びその合理的な変形を意味する。

【0061】

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

【0062】

本明細書で使用される、「対象」とは、ヒトまたは非ヒト動物を意味する。「対象」及び「個体」という用語は、同義で使用される。ある特定の実施形態では、該対象は、ヒトである。

【0063】

本明細書で使用される、「糖部分」とは、非修飾糖部分または修飾糖部分を意味する。本明細書で使用される、「非修飾糖部分」とは、RNAに見られるような2'-OH(H)β-D-リボシル糖部分(「非修飾RNA糖部分」)、またはDNAに見られるような2'-H(H)β-D-デオキシリボシル糖部分(「非修飾DNA糖部分」)を意味する。非修飾糖部分は、1'、3'、及び4'位の各々に1個の水素、3'位に酸素、及び5'位に2個の水素を有する。本明細書で使用される、「修飾糖部分」または「修飾糖」とは、修飾されたフラノシル糖部分または糖サロゲートを意味する。

【0064】

本明細書で使用される、「糖サロゲート」とは、核酸塩基を、オリゴヌクレオチドにおけるヌクレオシド間結合、コンジュゲート基、または末端基等の別の基に結合し得るフラノシル部分以外を有する修飾糖部分を意味する。糖サロゲートを含む修飾ヌクレオシドは、オリゴヌクレオチド内で1つ以上の位置に組み込まれることができ、かかるオリゴヌクレオチドは、相補的オリゴマー化合物または標的核酸にハイブリダイズすることが可能である。

【0065】

10

20

30

50

本明細書で使用される、「標的核酸」及び「標的RNA」は、アンチセンス化合物が作用するように設計されている核酸を意味する。標的RNAとは、RNA転写産物を意味し、別様に明記されない限り、pre-mRNA及び成熟mRNAを含む。

【0066】

本明細書で使用される、「標的領域」とは、オリゴマー化合物がハイブリダイズするように設計される標的核酸の一部を意味する。

【0067】

本明細書で使用される、「末端基」とは、オリゴヌクレオチドの末端に共有結合した化学基または原子団を意味する。

【0068】

特定の実施形態

本開示は、以下の非限定的な番号付けされた実施形態を提供する。

【0069】

実施形態1. 12～50個の連結したヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が、CHMP7核酸の等長部分に少なくとも90%相補的であり、前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾糖部分及び修飾ヌクレオシド間結合から選択される少なくとも1つの修飾を含む、前記オリゴマー化合物。

【0070】

実施形態2. 12～50個の連結したヌクレオシドからなり、配列番号10～477の核酸塩基のいずれかの少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、または20個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、修飾オリゴヌクレオチドを含む、オリゴマー化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾糖部分及び修飾ヌクレオシド間結合から選択される少なくとも1つの修飾を含む、前記オリゴマー化合物。

【0071】

実施形態3. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号10～477のいずれかの核酸塩基配列からなる核酸塩基配列を有する、実施形態2に記載のオリゴマー化合物。

【0072】

実施形態4. 12～30個の連結したヌクレオシドから、

配列番号1の核酸塩基3950～3983内の等長部分、

配列番号1の核酸塩基4242～4266内の等長部分、

配列番号1の核酸塩基4480～4525内の等長部分、

配列番号1の核酸塩基4534～4566内の等長部分、

配列番号1の核酸塩基5205～5232内の等長部分、

配列番号1の核酸塩基5404～5430内の等長部分、

配列番号1の核酸塩基8323～8344内の等長部分、

配列番号1の核酸塩基16927～16950内の等長部分、

配列番号1の核酸塩基17298～17340内の等長部分、または

配列番号1の核酸塩基18287～18313内の等長部分

に相補的な少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、または少なくとも20個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、修飾オリゴヌクレオチドを含む、オリゴマー化合物であって、前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾糖部分及び修飾ヌクレオシド間結合から選択される少なくとも1つの修飾を含む、前記オリゴマー化合物。

【0073】

実施形態5. 12～30個の連結したヌクレオシドからなり、

配列番号220、302、及び345、

配列番号21、131、191、及び465、

10

20

30

40

50

配列番号 34、116、184、242、257、340、及び 474、
配列番号 55、118、202、267、372、及び 422、
配列番号 73、136、197、及び 421、
配列番号 79、160、168、230、313、331、及び 464、
配列番号 157、186、及び 265、
配列番号 128、182、及び 309、
配列番号 44、76、153、206、283、363、及び 416、または
配列番号 85、121、189、300、及び 354

から選択される配列の少なくとも 8、少なくとも 9、少なくとも 10、少なくとも 11、
少なくとも 12、少なくとも 13、少なくとも 14、少なくとも 15、少なくとも 16、
少なくとも 17、または少なくとも 18 個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有す
る、修飾オリゴヌクレオチドを含む、オリゴマー化合物であって、前記修飾オリゴヌクレ
オチドが、修飾糖部分及び修飾ヌクレオシド間結合から選択される少なくとも 1 つの修飾
を含む、前記オリゴマー化合物。

10

【0074】

実施形態 6．前記修飾オリゴヌクレオチドが、前記修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基
配列全体にわたって測定した場合に、配列番号 1 または配列番号 2 の核酸塩基配列に、少
なくとも 80%、85%、90%、95%、または 100% 相補的である核酸塩基配列を
有する、実施形態 1～5 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0075】

20

実施形態 7．前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシドを含
む、実施形態 1～6 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0076】

実施形態 8．前記修飾オリゴヌクレオチドが、修飾糖部分を含む少なくとも 1 つの修飾
ヌクレオシドを含む、実施形態 7 に記載のオリゴマー化合物。

【0077】

実施形態 9．前記修飾オリゴヌクレオチドが、二環式糖部分を含む少なくとも 1 つの修
飾ヌクレオシドを含む、実施形態 8 に記載のオリゴマー化合物。

【0078】

実施形態 10．前記修飾オリゴヌクレオチドが、2' - 4' 架橋を有する二環式糖部分を
含む少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシドを含み、前記 2' - 4' 架橋が、 $-O-C\equiv$ 、
及び $-O-CH(CH_3)-$ から選択される、実施形態 9 に記載のオリゴマー化合物。

30

【0079】

実施形態 11．前記修飾オリゴヌクレオチドが、非二環式修飾糖部分を含む少なくとも
1 つの修飾ヌクレオシドを含む、実施形態 7～10 のいずれかに記載のオリゴマー化合物
。

【0080】

実施形態 12．前記修飾オリゴヌクレオチドが、2' - MOE 修飾糖部分または 2' - O
Me 修飾糖部分を含む非二環式修飾糖部分を含む少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシドを含
む、実施形態 11 に記載のオリゴマー化合物。

40

【0081】

実施形態 13．前記修飾オリゴヌクレオチドが、糖サロゲートを含む少なくとも 1 つの
修飾ヌクレオシドを含む、実施形態 7～12 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0082】

実施形態 14．前記糖サロゲートが、モルホリノ、修飾モルホリノ、PNA、THP、
及び F-HNA のいずれかから選択される、実施形態 13 に記載のオリゴマー化合物。

【0083】

実施形態 15．前記修飾オリゴヌクレオチドが、二環式修飾糖部分を含まない、実施形
態 1～8 または 11～14 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0084】

50

実施形態 16. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、ギャップマーである、実施形態 1 ~ 15 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0085】

実施形態 17. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、5 ~ 12 個の連結した 2' - デオキシヌクレオシドからなるデオキシ領域を含む、実施形態 1 ~ 16 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0086】

実施形態 18. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、5 ~ 12 個の連結した 2' - β - D - デオキシヌクレオシドからなるデオキシ領域を含む、実施形態 1 ~ 16 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

10

【0087】

実施形態 19. 前記デオキシ領域が、6、7、8、9、10、または 6 ~ 10 個の連結したヌクレオシドからなる、実施形態 17 または実施形態 18 に記載のオリゴマー化合物。

【0088】

実施形態 20. 前記デオキシ領域に直接隣接した各ヌクレオシドが、修飾糖部分を含む、実施形態 17 ~ 19 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0089】

実施形態 21. 前記デオキシ領域が、5' 側に 1 ~ 6 個の連結した 5' 外部領域ヌクレオシドからなる 5' 外部領域、及び 3' 側に 1 ~ 6 個の連結した 3' 外部領域ヌクレオシドからなる 3' 外部領域が配置された、実施形態 17 ~ 20 のいずれかに記載のオリゴマー化合物であって、

20

前記 5' 外部領域の最も 3' 側のヌクレオシドが、修飾糖部分を含み、かつ

前記 3' 外部領域の最も 5' 側のヌクレオシドが、修飾糖部分を含む、前記オリゴマー化合物。

【0090】

実施形態 22. 前記 3' 外部領域の各ヌクレオシドが、修飾糖部分を含む、実施形態 21 に記載のオリゴマー化合物。

【0091】

実施形態 23. 前記 5' 外部領域の各ヌクレオシドが、修飾糖部分を含む、実施形態 21 または実施形態 22 に記載のオリゴマー化合物。

30

【0092】

実施形態 24. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、
1 ~ 7 個の連結した 5' 領域ヌクレオシドからなる 5' 領域、
6 ~ 10 個の連結した中央領域ヌクレオシドからなる中央領域、及び
1 ~ 7 個の連結した 3' 領域ヌクレオシドからなる 3' 領域
を含み、

前記 5' 領域ヌクレオシドの各々及び前記 3' 領域ヌクレオシドの各々が、修飾糖部分を含み、前記中央領域ヌクレオシドの各々が、2' - β - D - デオキシフラノシル糖部分を含む、実施形態 1 ~ 23 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

40

【0093】

実施形態 25. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、
5 個の連結した 5' 領域ヌクレオシドからなる 5' 領域、
10 個の連結した中央領域ヌクレオシドからなる中央領域、及び
5 個の連結した 3' 領域ヌクレオシドからなる 3' 領域
を含み、

前記 5' 領域ヌクレオシドの各々及び前記 3' 領域ヌクレオシドの各々が、2' - MOE ヌクレオシドであり、前記中央領域ヌクレオシドの各々が、2' - β - D - デオキシヌクレオシドである、実施形態 24 に記載のオリゴマー化合物。

【0094】

50

実施形態 26.

前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも1つの修飾ヌクレオシド間結合を含む、実施形態1～25のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0095】

実施形態27. 前記修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合が、修飾ヌクレオシド間結合である、実施形態26に記載のオリゴマー化合物。

【0096】

実施形態28. 少なくとも1つの修飾ヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、実施形態26または実施形態27に記載のオリゴマー化合物。

【0097】

実施形態29. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも1つのホスホジエステルヌクレオシド間結合を含む、実施形態26または実施形態28に記載のオリゴマー化合物。

【0098】

実施形態30. 各ヌクレオシド間結合が、ホスホジエステルヌクレオシド間結合またはホスホロチオエートヌクレオシド間結合のいずれかである、実施形態26、28、または29のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0099】

実施形態31. 各修飾ヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、実施形態27に記載のオリゴマー化合物。

【0100】

実施形態32. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、ヌクレオシド間結合モチーフ $s o o o o s s s s s s s s s s s o o s s$ を有する実施形態26に記載のオリゴマー化合物であって、 s = ホスホロチオエートヌクレオシド間結合及び o = ホスホジエステルヌクレオシド間結合である、前記オリゴマー化合物。

【0101】

実施形態33. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも1つの修飾核酸塩基を含む、実施形態1～32のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0102】

実施形態34. 前記修飾核酸塩基が、5-メチルシトシンである、実施形態33に記載のオリゴマー化合物。

【0103】

実施形態35. 各シトシンが、5-メチルシトシンである、実施形態34に記載のオリゴマー化合物。

【0104】

実施形態36. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、12～30、12～22、12～20、14～18、14～20、15～17、15～25、16～18、16～20、17～20、18～20または18～22個の連結したヌクレオシドからなる、実施形態1～35のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0105】

実施形態37. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、16、17、18、19、または20個の連結したヌクレオシドからなる、実施形態1～36のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0106】

実施形態38. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、20個の連結したヌクレオシドからなる、実施形態1～35のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0107】

実施形態39. 前記修飾オリゴヌクレオチドからなる、実施形態1～38のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0108】

実施形態40. コンジュゲート基を含む、実施形態1～38のいずれかに記載のオリゴ

10

20

30

40

50

マー化合物。

【0109】

実施形態41．前記コンジュゲート基が、コンジュゲート部分及びコンジュゲートリンカーを含む、実施形態40に記載のオリゴマー化合物。

【0110】

実施形態42．前記コンジュゲートリンカーが、単結合からなる、実施形態41に記載のオリゴマー化合物。

【0111】

実施形態43．前記コンジュゲートリンカーが、切断可能である、実施形態41または実施形態42に記載のオリゴマー化合物。

【0112】

実施形態44．前記コンジュゲートリンカーが、1～3個のリンカーヌクレオシドを含む、実施形態41または実施形態43に記載のオリゴマー化合物。

【0113】

実施形態45．前記コンジュゲートリンカーが、いずれのリンカーヌクレオシドも含まない、実施形態41～43のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0114】

実施形態46．前記コンジュゲート基が、前記修飾オリゴヌクレオチドの5'末端で前記修飾オリゴヌクレオチドに結合される、実施形態40～45のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0115】

実施形態47．前記コンジュゲート基が、前記修飾オリゴヌクレオチドの3'末端で前記修飾オリゴヌクレオチドに結合される、実施形態40～45のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0116】

実施形態48．前記コンジュゲート基が、脂質を含む、実施形態40～47のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0117】

実施形態49．前記コンジュゲート基が、細胞標的化部分を含む、実施形態40～47のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0118】

実施形態50．さらに、末端基を含む、実施形態1～49のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0119】

実施形態51．一本鎖オリゴマー化合物である、実施形態1～49のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0120】

実施形態52．細胞のCHMP7 RNAの量を低減することが可能である、実施形態1～51のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0121】

実施形態53．前記オリゴマー化合物の前記修飾オリゴヌクレオチドが、ナトリウム、カリウム、カルシウム、及びマグネシウムから選択される1つ以上のカチオンを含む医薬的に許容される塩である、実施形態1～52のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0122】

実施形態54．第一のオリゴマー化合物、及び第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物を含むオリゴマー二重鎖であって、前記第一のオリゴマー化合物が、実施形態1～53のいずれかに記載のオリゴマー化合物である、前記オリゴマー二重鎖。

【0123】

実施形態55．アンチセンス化合物を含むアンチセンス剤であって、前記アンチセンス

10

20

30

40

50

化合物が、実施形態 1～53 のいずれかに記載のオリゴマー化合物または実施形態 54 に記載のオリゴマー二重鎖である、前記アンチセンス剤。

【0124】

実施形態 56 . 実施形態 54 に記載のオリゴマー二重鎖である、実施形態 55 に記載のアンチセンス剤。

【0125】

実施形態 57 . 実施形態 55 または実施形態 56 に記載のアンチセンス剤であって、 $RNaSeH$ の活性化により $CHMP7$ 核酸の量を低減することが可能な $RNaSeH$ 剤、または

$RISC/AgO2$ の活性化により $CHMP7$ 核酸の量を低減することが可能な $RNAi$ 剤である、前記アンチセンス剤。 10

【0126】

実施形態 58 . コンジュゲート基を含む、実施形態 55～57 のいずれかに記載のアンチセンス剤であって、前記コンジュゲート基が、細胞標的化部分を含む、前記アンチセンス剤。

【0127】

実施形態 59 . 実施形態 1～53 のいずれかに記載のオリゴマー化合物、実施形態 54 に記載のオリゴマー二重鎖、または実施形態 55～58 のいずれかに記載のアンチセンス剤、及び医薬的に許容される希釈剤を含む医薬組成物。

【0128】

実施形態 60 . 前記医薬的に許容される希釈剤が、人工 $CSF(aCSF)$ またはリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) である、実施形態 59 に記載の医薬組成物。 20

【0129】

実施形態 61 . 前記オリゴマー化合物、オリゴマー二重鎖、またはアンチセンス剤、及び人工 $CSF(aCSF)$ から本質的になる、実施形態 60 に記載の医薬組成物。

【0130】

実施形態 62 . 前記オリゴマー化合物、オリゴマー二重鎖、またはアンチセンス剤、及びリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) から本質的になる、実施形態 60 に記載の医薬組成物。

【0131】

実施形態 63 . 実施形態 1～53 のいずれかに記載のオリゴマー化合物のキラル濃縮集団であって、特定の立体化学的配置を有する少なくとも 1 つの特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含むオリゴマー化合物について濃縮されている、前記集団。 30

【0132】

実施形態 64 . (Sp) 配置を有する少なくとも 1 つの特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含むオリゴマー化合物について濃縮されている、実施形態 63 に記載のキラル濃縮集団。

【0133】

実施形態 65 . (Rp) 配置を有する少なくとも 1 つの特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含むオリゴマー化合物について濃縮されている、実施形態 63 に記載のキラル濃縮集団。 40

【0134】

実施形態 66 . 各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合において特定の独立して選択される立体化学的配置を有するオリゴマー化合物について濃縮されている、実施形態 63 に記載のキラル濃縮集団。

【0135】

実施形態 67 . 各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合において (Sp) 配置を有するオリゴマー化合物について濃縮されているか、または各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合において (Rp) 配置を有する修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている、実施形態 66 に記載のキラル濃縮集団。 50

【0136】

実施形態68．1つの特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合において（Rp）配置を有し、残りのホスホロチオエートヌクレオシド間結合の各々において（Sp）配置を有するオリゴマー化合物について濃縮されている、実施形態66に記載のキラル濃縮集団。

【0137】

実施形態69．5'から3'の方向に、Sp配置、Sp配置、及びRp配置で少なくとも3つの連続するホスホロチオエートヌクレオシド間結合を有するオリゴマー化合物について濃縮されている、実施形態66に記載のキラル濃縮集団。

【0138】

実施形態70．実施形態1～53のいずれかに記載のオリゴマー化合物の集団であって、前記修飾オリゴヌクレオチドのホスホロチオエートヌクレオシド間結合のすべてがステレオランダムである、前記集団。

【0139】

実施形態71．実施形態63～70のいずれかに記載のオリゴマー化合物の集団及び医薬的に許容される希釈剤を含む医薬組成物。

【0140】

実施形態72．前記医薬的に許容される希釈剤が、人工CSF（aCSF）またはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）である、実施形態71に記載の医薬組成物。

【0141】

実施形態73．前記オリゴマー化合物の集団及び人工CSF（aCSF）から本質的になる、実施形態72に記載の医薬組成物。

【0142】

実施形態74．前記オリゴマー化合物の集団及びPBSから本質的になる、実施形態72に記載の医薬組成物。

【0143】

I．特定のオリゴヌクレオチド

ある特定の実施形態では、連結したヌクレオシドからなるオリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物を本明細書に提供する。オリゴヌクレオチドは、非修飾オリゴヌクレオチド（RNAまたはDNA）の場合もあれば、修飾オリゴヌクレオチドの場合もある。修飾オリゴヌクレオチドは、非修飾RNAまたはDNAに対して少なくとも1つの修飾を含む。すなわち、修飾オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つの修飾ヌクレオシド（修飾糖部分及び／または修飾核酸塩基を含む）及び／または少なくとも1つの修飾ヌクレオシド間結合を含む。

【0144】

A．特定の修飾ヌクレオシド

修飾ヌクレオシドは、修飾糖部分もしくは修飾核酸塩基、または修飾糖部分及び修飾核酸塩基の両方を含む。

【0145】

1．特定の糖部分

ある特定の実施形態では、修飾糖部分は、非二環式修飾糖部分である。ある特定の実施形態では、修飾糖部分は、二環式または三環式糖部分である。ある特定の実施形態では、修飾糖部分は、糖サロゲートである。かかる糖サロゲートは、他のタイプの修飾糖部分のものに対応する1つ以上の置換を含み得る。

【0146】

ある特定の実施形態では、修飾糖部分は、1つ以上の置換基を有するフラノシル環を含む非二環式修飾糖部分であり、そのいずれも、フラノシル環の2つの原子を架橋して二環式構造を形成しない。かかる非架橋置換基は、2'、4'、及び／または5'位にある置換基が挙げられるがこれらに限定されないフラノシルの任意の位置にあってもよい。ある特定の実施形態では、非二環式修飾糖部分の1つ以上の非架橋置換基は分岐している。非二

10

20

30

40

50

環式修飾糖部分に適切な 2' - 置換基の例としては、2' - F、2' - OCH₃ (「OMe」または「O-メチル」)、及び 2' - O(CH₂)₂CH₃ (「MOE」または「O-メトキシエチル」) が挙げられるがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、2' - 置換基は、ハロ、アリル、アミノ、アジド、SH、CN、OCN、CF₃、OCF₃、O-C₁-C₁₀アルコキシ、O-C₁-C₁₀置換アルコキシ、O-C₁-C₁₀アルキル、O-C₁-C₁₀置換アルキル、S-アルキル、N(R_m)-アルキル、O-アルケニル、S-アルケニル、N(R_m)-アルケニル、O-アルキニル、S-アルキニル、N(R_m)-アルキニル、O-アルキレニル-O-アルキル、アルキニル、アルカリル、アラルキル、O-アルカリル、O-アラルキル、O(CH₂)₂SCH₃、O(CH₂)₂ON(R_m)(R_n) または OCH₂C(=O)-N(R_m)(R_n) の中から選択され、式中、各 R_m 及び R_n は、独立して、H、アミノ保護基、または置換もしくは非置換の C₁-C₁₀アルキル、ならびに Cook et al., U.S. 6,531,584、Cook et al., U.S. 5,859,221、及び Cook et al., U.S. 6,005,087 に記載されている 2' - 置換基である。これらの 2' - 置換基のある特定の実施形態は、ヒドロキシル、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、ベンジル、フェニル、ニトロ(NO₂)、チオール、チオアルコキシ、チオアルキル、ハロゲン、アルキル、アリール、アルケニル、及びアルキニルの中から独立して選択される 1 つ以上の置換基でさらに置換され得る。非二環式修飾糖部分に適切な 4' - 置換基の例としては、アルコキシ (例えば、メトキシ)、アルキル、及び Manoharan et al., WO 2015/106128 に記載されているものが挙げられるがこれらに限定されない。非二環式修飾糖部分に適切な 5' - 置換基の例としては、5' - メチル (R または S)、5' - ビニル、及び 5' - メトキシが挙げられるがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、非二環式修飾糖部分は、例えば、2' - F-5' - メチル糖部分、ならびに Migawa et al., WO 2008/101157 及び Rajeev et al., US 2013/0203836 に記載の、修飾糖部分及び修飾ヌクレオシド等、2 つ以上の非架橋糖置換基を含む。

10

20

30

40

50

【0147】

ある特定の実施形態では、2' - 置換非二環式修飾ヌクレオシドは、F、NH₂、N₃、OCF₃、OCH₃、O(CH₂)₃NH₂、CH₂CH=CH₂、OCH₂CH=CH₂、OCH₂CH₂OCH₃、O(CH₂)₂SCH₃、O(CH₂)₂ON(R_m)(R_n)、O(CH₂)₂O(CH₂)₂N(CH₃)₂、及び N-置換アセトアミド (OCH₂C(=O)-N(R_m)(R_n)) から選択される非架橋 2' - 置換基を含む糖部分を含み、式中、各 R_m 及び R_n は、独立して、H、アミノ保護基、または置換もしくは非置換の C₁-C₁₀アルキルである。

【0148】

ある特定の実施形態では、2' - 置換非二環式修飾ヌクレオシドは、F、OCF₃、OCH₃、OCH₂CH₂OCH₃、O(CH₂)₂SCH₃、O(CH₂)₂ON(CH₃)₂、O(CH₂)₂O(CH₂)₂N(CH₃)₂、及び OCH₂C(=O)-N(H)CH₃ (「NMA」) から選択される非架橋 2' - 置換基を含む糖部分を含む。

【0149】

ある特定の実施形態では、2' - 置換非二環式修飾ヌクレオシドは、F、OCH₃、及び OCH₂CH₂OCH₃ から選択される非架橋 2' - 置換基を含む糖部分を含む。

【0150】

ある特定の実施形態では、修飾フラノシル糖部分及びかかる修飾フラノシル糖部分を組み込むヌクレオシドは、異性体配置によってさらに定義される。例えば、2' - デオキシフラノシル糖部分は、天然に存在する β-D-デオキシリボシル配置以外に 7 種の異性体配置をとり得る。かかる修飾糖部分は、例えば、参照により本明細書に組み込まれる WO 2019/157531 に記載されている。2' 修飾糖部分は、2' - デオキシフラノシル糖部分に対して 2' 位にさらなる立体中心を有する。従って、かかる糖部分は、合計で 16 種の異性体配置を有する可能性がある。本明細書に記載の 2' 修飾糖部分は、別様に明

記されない限り、 β -D-リボシル異性体配置にある。

【0151】

ある特定の修飾糖部分は、第二の環を形成して二環式糖部分をもたらすフラノシル環の2つの原子を架橋する置換基を含む。かかる二環式糖部分を含むヌクレオシドは、二環式ヌクレオシド (BNA)、ロックドヌクレオシド、または配座固定されたヌクレオチド (CRN) と呼ばれている。ある特定のかかる化合物は、米国特許公開第2013/0190383号及びPCT公開第WO2013/036868号に記載されている。ある特定のかかる実施形態では、該二環式糖部分は、4'フラノース環原子と2'フラノース環原子の間に架橋を含む。ある特定のかかる実施形態では、該フラノース環は、リボース環である。かかる4'と2'を架橋する糖置換基の例としては、4'- CH_2 -2'、4'-(CH_2)₂-2'、4'-(CH_2)₃-2'、4'- CH_2 -O-2' (「LNA」)、4'- CH_2 -S-2'、4'-(CH_2)₂-O-2' (「ENA」)、4'- $\text{CH}(\text{CH}_2)$ -O-2' (S配置の場合に「拘束エチル」または「cEt」と称される)、4'- CH_2 -O- CH_2 -2'、4'- CH_2 -N(R)-2'、4'- $\text{CH}(\text{CH}_2\text{OCH}_3)$ -O-2' (「拘束MOE」または「cMOE」) 及びその類似体 (例えば、Seth et al., U.S. 7,399,845, Bhat et al., U.S. 7,569,686, Swayze et al., U.S. 7,741,457、及びSwayze et al., U.S. 8,022,193参照)、4'-C(CH₃)(CH₃)-O-2' 及びその類似体 (例えば、Seth et al., U.S. 8,278,283参照)、4'- CH_2 -N(OCH₃)-2' 及びその類似体 (例えば、Prakash et al., U.S. 8,278,425参照)、4'- CH_2 -O-N(CH₃)-2' (例えば、Allerson et al., U.S. 7,696,345及びAllerson et al., U.S. 8,124,745参照)、4'- CH_2 -C(H)(CH₃)-2' (例えば、Zhou, et al., J. Org. Chem., 2009, 74, 118-134参照)、4'- CH_2 -C(=CH₂)-2' 及びその類似体 (例えば、Seth et al., U.S. 8,278,426参照)、4'-C(R_aR_b)-N(R)-O-2'、4'-C(R_aR_b)-O-N(R)-2'、4'- CH_2 -O-N(R)-2'、及び4'- CH_2 -N(R)-O-2' が挙げられるがこれらに限定されず、式中、各R、R_a、及びR_bは、独立して、H、保護基、またはC₁-C₁₂アルキルである (例えば、Imanishi et al., U.S. 7,427,672参照)。

【0152】

ある特定の実施形態では、かかる4'と2'の架橋は、独立して、-[C(R_a)(R_b)]_n-、-[C(R_a)(R_b)]_n-O-、C(R_a)=C(R_b)-、-C(R_a)=N-、C(=NR_a)-、-C(=O)-、-C(=S)-、-O-、-Si(R_a)₂-、-S(=O)_x-、及びN(R_a)-から選択される1~4個の連結基を含み、式中、

xは、0、1、または2であり、

nは、1、2、3、または4であり、

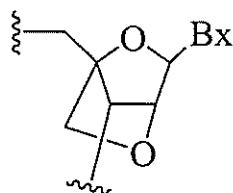
各R_a及びR_bは、独立して、H、保護基、ヒドロキシル、C₁-C₁₂アルキル、置換C₁-C₁₂アルキル、C₂-C₁₂アルケニル、置換C₂-C₁₂アルケニル、C₂-C₁₂アルキニル、置換C₂-C₁₂アルキニル、C₅-C₂₀アリール、置換C₅-C₂₀アリール、複素環ラジカル、置換複素環ラジカル、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、C₅-C₇脂環式ラジカル、置換C₅-C₇脂環式ラジカル、ハロゲン、OJ₁、NJ₁J₂、SJ₁、N₃、COOJ₁、アシル(C(=O)-H)、置換アシル、CN、スルホニル(S(=O)₂-J₁)、またはスルホキシル(S(=O)-J₁)であり、各J₁及びJ₂は、独立して、H、C₁-C₁₂アルキル、置換C₁-C₁₂アルキル、C₂-C₁₂アルケニル、置換C₂-C₁₂アルケニル、C₂-C₁₂アルキニル、置換C₂-C₁₂アルキニル、C₅-C₂₀アリール、置換C₅-C₂₀アリール、アシル(C(=O)-H)、置換アシル、複素環ラジカル、置換複素環ラジカル、C₁-C₁₂アミノアルキル、置換C₁-C₁₂アミノアルキル、または保護基である。

【0153】

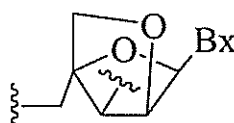
追加の二環式糖部分が当技術分野で知られている。例えば、Freier et al., Nucleic Acids Research, 1997, 25 (22), 4429-4443, Albaek et al., J. Org. Chem., 2006, 71, 7731-7740, Singh et al., Chem. Commun., 1998, 4, 455-456, Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630, Wahlestedt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 2000, 97, 5633-5638, Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222, Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039, Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc., 2007, 129, 8362-8379, Elayadi et al., Curr. Opinion Inven. Drugs, 2001, 2, 558-561, Braasch et al., Chem. Biol., 2001, 8, 1-7, Orum et al., Curr. Opinion Mol. Ther., 2001, 3, 239-243, Wengel et al., U. S. 7, 053, 207, Imanishi et al., U. S. 6, 268, 490, Imanishi et al., U. S. 6, 770, 748, Imanishi et al., U. S. RE44, 779, Wengel et al., U. S. 6, 794, 499, Wengel et al., U. S. 6, 670, 461, Wengel et al., U. S. 7, 034, 133, Wengel et al., U. S. 8, 080, 644, Wengel et al., U. S. 8, 034, 909, Wengel et al., U. S. 8, 153, 365, Wengel et al., U. S. 7, 572, 582, 及び Ramasamy et al., U. S. 6, 525, 191, Torsten et al., WO2004/106356, Wengel et al., WO1999/014226, Seth et al., WO2007/134181, Seth et al., U. S. 7, 547, 684, Seth et al., U. S. 7, 666, 854, Seth et al., U. S. 8, 088, 746, Seth et al., U. S. 7, 750, 131, Seth et al., U. S. 8, 030, 467, Seth et al., U. S. 8, 268, 980, Seth et al., U. S. 8, 546, 556, Seth et al., U. S. 8, 530, 640, Migawa et al., U. S. 9, 012, 421, Seth et al., U. S. 8, 501, 805, Allerson et al., US2008/0039618, 及び Migawa et al., US2015/0191727 を参照されたい。ある特定の実施形態では、二環式糖部分及びかかる二環式糖部分を組み込むヌクレオシドは、異性体配置によってさらに定義される。例えば、LNAヌクレオシド（本明細書に記載される）は、 α -L 配置でも β -D 配置でもよい。

【0154】

【化1】



LNA (β -D-配置)
架橋 = 4'-CH₂-O-2'



α -L-LNA (α -L-配置)
架橋 = 4'-CH₂-O-2'

10

20

30

40

50

【0155】

α -L-メチレンオキシ(4'-CH₂-O-2')または α -L-LNA二環式ヌクレオシドは、アンチセンス活性を示したオリゴヌクレオチドに組み込まれている(Frieden et al., Nucleic Acids Research, 2003, 21, 6365-6372)。本明細書では、二環式ヌクレオシドの一般的表現には両方の異性体配置が含まれる。特定の二環式ヌクレオシド(例えば、LNAまたはcEt)の位置が、本明細書における例示的な実施形態において特定される場合、それらは別段に特定されない限り、 β -D配置にある。

【0156】

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

10

【0157】

ある特定の実施形態では、修飾糖部分は、糖サロゲートである。ある特定のかかる実施形態では、該糖部分の酸素原子は、例えば、硫黄、炭素、または窒素原子で置き換えられる。ある特定のかかる実施形態では、かかる修飾糖部分はまた、本明細書に記載の架橋及び/または非架橋置換基も含む。例えば、ある特定の糖サロゲートは、4'-硫黄原子ならびに2'位(例えば、Bhat et al., U.S. 7, 875, 733及びBhat et al., U.S. 7, 939, 677参照)及び/または5'位における置換を含む。

20

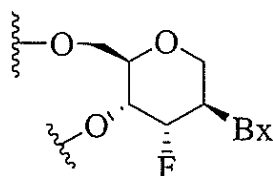
【0158】

ある特定の実施形態では、糖サロゲートは、5原子以外を有する環を含む。例えば、ある特定の実施形態では、糖サロゲートは、6員のテトラヒドロピラン(「THP」)を含む。かかるテトラヒドロピランは、さらに修飾されても置換されてもよい。かかる修飾テトラヒドロピランを含むヌクレオシドとしては、ヘキシトール核酸(「HNA」)、アニトール(anitol)核酸(「ANA」)、マニトール(manitol)核酸(「MNA」)(例えば、Leumann, C.J. Bioorg. & Med. Chem. 2002, 10, 841-854参照)、フルオロHNA:

【0159】

【化2】

30



F-HNA

【0160】

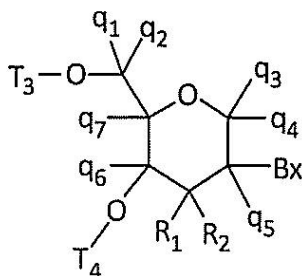
(「F-HNA」、例えば、Swayze et al., U.S. 8, 088, 904、Swayze et al., U.S. 8, 440, 803、Swayze et al., U.S. 8, 796, 437、及びSwayze et al., U.S. 9, 005, 906参照、F-HNAはまた、F-THPまたは3'-フルオロテトラヒドロピランとも称され得る)、ならびに以下の式を有するさらなる修飾THP化合物を含むヌクレオシドが挙げられるがこれらに限定されず、

40

【0161】

50

【化 3】



10

【0162】

式中、上記の修飾THPヌクレオシドの各々について、独立して

Bxは、核酸塩基部分であり、

T₃及びT₄は、各々独立して、修飾THPヌクレオシドをオリゴヌクレオチドの残りに結合するヌクレオシド間結合基であるか、またはT₃及びT₄の一方は、修飾THPヌクレオシドをオリゴヌクレオチドの残りに結合するヌクレオシド間結合基であり、T₃及びT₄の他方は、H、ヒドロキシル保護基、連結したコンジュゲート基、または5'もしくは3'末端基であり、

q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆、及びq₇は、各々独立して、H、C₁－C₆アルキル、置換C₁－C₆アルキル、C₂－C₆アルケニル、置換C₂－C₆アルケニル、C₂－C₆アルキニル、または置換C₂－C₆アルキニルであり、

20

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

【0163】

ある特定の実施形態では、q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆及びq₇が各々Hである修飾THPヌクレオシドを提供する。ある特定の実施形態では、q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆及びq₇の少なくとも1つは、H以外である。ある特定の実施形態では、q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆及びq₇の少なくとも1つは、メチルである。ある特定の実施形態では、R₁及びR₂の一方がFである修飾THPヌクレオシドを提供する。ある特定の実施形態では、R₁は、Fであり、R₂は、Hであり、ある特定の実施形態では、R₁は、メトキシであり、R₂は、Hであり、ある特定の実施形態では、R₁は、メトキシエトキシであり、R₂は、Hである。

30

【0164】

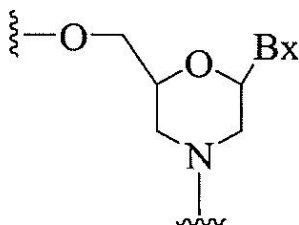
ある特定の実施形態では、糖サロゲートは、5個よりも多くの原子及び1個よりも多くのヘテロ原子を有する環を含む。例えば、モルホリノ糖部分を含むヌクレオシド、及びオリゴヌクレオチドにおけるそれらの使用が報告されている（例えば、Braasch et al., Biochemistry, 2002, 41, 4503-4510、ならびにSummerton et al., U.S. 5,698,685、Summerton et al., U.S. 5,166,315、Summerton et al., U.S. 5,185,444、及びSummerton et al., U.S. 5,034,506参照）。本明細書で使用される、「モルホリノ」という用語は、以下の構造を有する糖サロゲートを意味する。

40

【0165】

50

【化 4】



【0166】

10

ある特定の実施形態では、モルホリノは、例えば、上記のモルホリノ構造から種々の置換基を付加するかまたは変更することによって修飾されてもよい。かかる糖サロゲートは本明細書では「修飾モルホリノ」と呼ばれる。

【0167】

ある特定の実施形態では、糖サロゲートは非環式部分を含む。かかる非環式糖サロゲートを含むヌクレオシド及びオリゴヌクレオチドの例としては、ペプチド核酸（「PNA」）、非環式ブチル核酸（例えば、Kumar et al., Org. Biomol. Chem., 2013, 11, 5853-5865 参照）、ならびに Manoharan et al., WO 2011/133876 に記載のヌクレオシド及びオリゴヌクレオチドが挙げられるがこれらに限定されない。

20

【0168】

多くの他の二環式糖及び三環式糖ならびに糖サロゲートの環系が当技術分野で知られており、これらは修飾ヌクレオシドに使用することができる。

【0169】

2. 特定の修飾核酸塩基

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

30

【0170】

ある特定の実施形態では、修飾核酸塩基は、5-置換ピリミジン、6-アザピリミジン、アルキルまたはアルキニル置換ピリミジン、アルキル置換プリン、ならびに N-2、N-6 及び O-6 置換プリンから選択される。ある特定の実施形態では、修飾核酸塩基は、5-メチルシトシン、2-アミノプロピルアデニン、5-ヒドロキシメチルシトシン、キサンチン、ヒポキサンチン、2-アミノアデニン、6-N-メチルグアニン、6-N-メチルアデニン、2-プロピルアデニン、2-チオウラシル、2-チオチミン及び2-チオシトシン、5-プロピニル（ $-C \equiv C-CH_3$ ）ウラシル、5-プロピニルシトシン、6-アゾウラシル、6-アゾシトシン、6-アゾチミン、5-リボシルウラシル（シュードウラシル）、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、8-アザ及び他の8-置換プリン、5-ハロ、特に5-ブロモ、5-トリフルオロメチル、5-ハロウラシル、及び5-ハロシトシン、7-メチルグアニン、7-メチルアデニン、2-F-アデニン、2-アミノアデニン、7-デアザグアニン、7-デアザアデニン、3-デアザグアニン、3-デアザアデニン、6-N-ベンゾイルアデニン、2-N-イソブチルグアニン、4-N-ベンゾイルシトシン、4-N-ベンゾイルウラシル、5-メチル4-N-ベンゾイルシトシン、5-メチル4-N-ベンゾイルウラシル、ユニバーサル塩基、疎水性塩基、無差別塩基（promiscuous base）、サイズ拡張塩基（size-expanded base）及びフッ素化塩基から選択される。さらなる修飾核酸塩基としては、三環式ピリミジン、例えば、1,3-ジアザフェノキサジン-2-オン、1,3-ジアザフェノチアジン-2-オン及び9-（

40

50

2-アミノエトキシ)-1,3-ジアザフェノキサジン-2-オン(G-クランプ)が挙げられる。修飾核酸塩基としては、プリンまたはピリミジン塩基が他の複素環により置き換えられているもの、例えば、7-デアザアデニン、7-デアザグアノシン、2-アミノピリジン及び2-ピリドンを挙げることできる。さらなる核酸塩基としては、Merigan et al., U. S. 3, 687, 808に開示されているもの、The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering, Kroschwitz, J. I., Ed., John Wiley & Sons, 1990, 858-859、Englisch et al., Angewandte Chemie, International Edition, 1991, 30, 613、Sanghvi, Y. S., Chapter 15, Antisense Research and Applications, Crooke, S. T. and Lebleu, B., Eds., CRC Press, 1993, 273-288に開示されているもの、ならびにChapters 6及び15, Antisense Drug Technology, Crooke S. T., Ed., CRC Press, 2008, 163-166及び442-443に開示されているものが挙げられる。

10

【0171】

上述の修飾核酸塩基及び他の修飾核酸塩基のうちのいくつかについての調製を教示する刊行物としては、Manoharan et al., US2003/0158403、Manoharan et al., US2003/0175906、Dinh et al., U. S. 4, 845, 205、Spielvogel et al., U. S. 5, 130, 302、Rogers et al., U. S. 5, 134, 066、Bischofberger et al., U. S. 5, 175, 273、Urdea et al., U. S. 5, 367, 066、Benner et al., U. S. 5, 432, 272、Matteucci et al., U. S. 5, 434, 257、Gmeiner et al., U. S. 5, 457, 187、Cook et al., U. S. 5, 459, 255、Froehler et al., U. S. 5, 484, 908、Matteucci et al., U. S. 5, 502, 177、Hawkins et al., U. S. 5, 525, 711、Haralambidis et al., U. S. 5, 552, 540、Cook et al., U. S. 5, 587, 469、Froehler et al., U. S. 5, 594, 121、Switzer et al., U. S. 5, 596, 091、Cook et al., U. S. 5, 614, 617、Froehler et al., U. S. 5, 645, 985、Cook et al., U. S. 5, 681, 941、Cook et al., U. S. 5, 811, 534、Cook et al., U. S. 5, 750, 692、Cook et al., U. S. 5, 948, 903、Cook et al., U. S. 5, 587, 470、Cook et al., U. S. 5, 457, 191、Matteucci et al., U. S. 5, 763, 588、Froehler et al., U. S. 5, 830, 653、Cook et al., U. S. 5, 808, 027、Cook et al., 6, 166, 199、及びMatteucci et al., U. S. 6, 005, 096が挙げられるがこれらに限定されない。

20

30

40

【0172】

3. 特定の修飾ヌクレオシド間結合

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、任意のヌクレオシド間結合を使用して連結され得る。ヌクレオシド間結合基の2つの主なクラスは、リン原子の存在または非存在により規定される。代表的なリン含有ヌクレオシド間結合としては、ホスホジエステル結合(「 $P(O_2)=O$ 」)(非修飾結合または天然に存在する結合とも称される)、ホスホトリエステル、メチルホスホネート、ホスホロアミデート、ホスホロチオエート(「 $P(O_2)=S$ 」)、及びホスホロジチオエート(「 $HS-P=S$ 」)を含むホスホジエステルが挙げられるがこれらに限定されない。リンを含まない代表

50

的なヌクレオシド間結合基としては、メチレンメチルイミノ ($-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{O}-\text{CH}_2-$)、チオジエステル、チオノカルバメート ($-\text{O}-\text{C}(=\text{O})(\text{NH})-\text{S}-$)、シロキサン ($-\text{O}-\text{SiH}_2-\text{O}-$)、及び N, N' -ジメチルヒドラジン ($-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{N}(\text{CH}_3)-$) が挙げられるがこれらに限定されない。天然に存在するホスホジエステルヌクレオシド間結合と比較して、修飾ヌクレオシド間結合は、オリゴヌクレオチドのヌクレアーゼ耐性を改変する、典型的には増加させるために使用され得る。ある特定の実施形態では、キラル原子を有するヌクレオシド間結合は、ラセミ混合物として調製される場合もあれば別々のエナンチオマーとして調製される場合もある。リン含有及び非リン含有ヌクレオシド間結合の調製方法は、当業者には周知である。

【0173】

キラル中心を有する代表的なヌクレオシド間結合としては、アルキルホスホネート及びホスホロチオエートが挙げられるがこれらに限定されない。キラル中心を有するヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドは、ステレオランダムなヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドの集団として、または特定の立体化学配置にあるホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドの集団として調製され得る。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの集団は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合のすべてがステレオランダムである、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む。かかる修飾オリゴヌクレオチドは、各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合の立体化学配置がランダムに選択される合成方法を使用して作製することができる。それにもかかわらず、当業者には周知のとおり、各々個々のオリゴヌクレオチド分子の各々個々のホスホロチオエートには定義された立体配置がある。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの集団は、独立して選択される特定の立体化学配置にある特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を1つ以上含む修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている。ある特定の実施形態では、該特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合の特定の配置は、該集団の分子の少なくとも65%に存在する。ある特定の実施形態では、該特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合の特定の配置は、該集団の分子の少なくとも70%に存在する。ある特定の実施形態では、該特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合の特定の配置は、該集団の分子の少なくとも80%に存在する。ある特定の実施形態では、該特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合の特定の配置は、該集団の分子の少なくとも90%に存在する。ある特定の実施形態では、該特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合の特定の配置は、該集団の分子の少なくとも99%に存在する。かかる修飾オリゴヌクレオチドのキラル濃縮集団は、当技術分野で既知の合成方法、例えば、Okamoto et al., JACS, 2003, 125, 8307, Wan et al., Nuc. Acid. Res., 2014, 42, 13456, 及びWO2017/015555に記載される方法を使用して生成され得る。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの集団は、(Sp)配置にある少なくとも1つの示されるホスホロチオエートを有する修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮される。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの集団は、(Rp)配置にある少なくとも1つのホスホロチオエートを有する修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮される。ある特定の実施形態では、(Rp)及び/または(Sp)ホスホロチオエートを含む修飾オリゴヌクレオチドは、それぞれ、以下の式のうちの1つ以上を含み、式中、「B」は、核酸塩基を示す。

【0174】

10

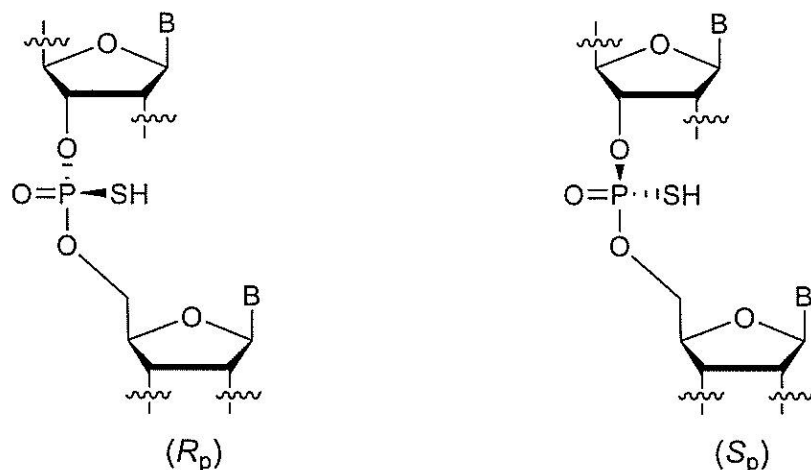
20

30

40

50

【化 5】



10

【0175】

別段の指示がない限り、本明細書に記載の修飾オリゴヌクレオチドのキラルヌクレオシド間結合は、ステレオランダムの場合もあれば、特定の立体化学的配置にある場合もある。

20

【0176】

中性のヌクレオシド間結合としては、ホスホトリエステル、メチルホスホネート、MMI (3'-CH₂-N(CH₃)-O-5')、アミド-3 (3'-CH-C(=O)-N(H)-5')、アミド-4 (3'-CH-N(H)-C(=O)-5')、ホルムアセタール (3'-O-CH₂-O-5')、メトキシプロピル (MOP)、及びチオホルムアセタール (3'-S-CH₂-O-5') が挙げられるがこれらに限定されない。さらに中性のヌクレオシド間結合としては、シロキサン (ジアルキルシロキサン)、カルボン酸エステル、カルボキサミド、スルフィド、スルホン酸エステル及びアミドを含む、非イオン性結合が挙げられる (例えば、Carbohydrate Modifications in Antisense Research; Y. S. Sanghvi and P. D. Cook, Eds., ACS Symposium Series 580; Chapters 3及び4, 40-65参照)。さらなる中性ヌクレオシド間結合としては、N、O、S及びCH₂の構成成分を混合で含む非イオン結合が挙げられる。

30

【0177】

B. 特定のモチーフ

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、修飾糖部分を含む1つ以上の修飾ヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、修飾核酸塩基を含む1つ以上の修飾ヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、1つ以上の修飾ヌクレオシド間結合を含む。かかる実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの修飾、非修飾、及び異なる修飾糖部分、核酸塩基、及び／またはヌクレオシド間結合は、パターンまたはモチーフを規定する。ある特定の実施形態では、糖部分、核酸塩基、及びヌクレオシド間結合のパターンは各々、互いに独立している。従って、修飾オリゴヌクレオチドは、その糖モチーフ、核酸塩基モチーフ、及び／またはヌクレオシド間結合モチーフによって表され得る (本明細書で使用される、核酸塩基モチーフは、核酸塩基の配列とは独立して、核酸塩基に対する修飾を表す)。

40

【0178】

1. 特定の糖モチーフ

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドまたはその部分に沿って規定のパターンまたは糖モチーフで配置された1つ以上のタイプの修飾糖及び／または非修飾糖部分を含む。場合によっては、かかる糖モチーフとしては、本明細書で論

50

じる糖修飾のいずれかが挙げられるがこれらに限定されない。

【0179】

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーモチーフを有し、これは、2つの外部領域、すなわち「ウイング」と、中央または内部領域、すなわち「ギャップ」とによって画定される。ギャップマーモチーフの3つの領域（5'ウイング、ギャップ、及び3'ウイング）は、連続したヌクレオシド配列を形成し、ここで、両ウイングの各々のヌクレオシドの糖部分のうちの少なくともいくつかは、ギャップのヌクレオシドの糖部分の少なくともいくつかとは異なる。具体的には、各ウイングの、少なくともギャップに最も近いヌクレオシド（5'ウイングの最も3'側のヌクレオシド及び3'ウイングの最も5'側のヌクレオシド）の糖部分は、隣接するギャップヌクレオシドの糖部分とは異なり、ひいてはウイングとギャップとの間の境界（すなわち、ウイング／ギャップ連結部）を画定する。ある特定の実施形態では、ギャップ内の糖部分は、互いに同じである。ある特定の実施形態では、該ギャップは、該ギャップの1つ以上の他のヌクレオシドの糖部分とは異なる糖部分を有する1つ以上のヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、該2つのウイングの糖モチーフは、互いに同じである（対称ギャップマー）。ある特定の実施形態では、5'ウイングの糖モチーフは、3'ウイングの糖モチーフとは異なる（非対称ギャップマー）。

10

【0180】

ある特定の実施形態では、ギャップマーのウイングは、1～6個のヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーの各ウイングの各ヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーの各ウイングの少なくとも1つのヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーの各ウイングの少なくとも2つのヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーの各ウイングの少なくとも3つのヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーの各ウイングの少なくとも4つのヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーの各ウイングの少なくとも5つのヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。

20

【0181】

ある特定の実施形態では、ギャップマーのギャップは、7～12個のヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーのギャップの各ヌクレオシドは、2'-デオキシリボシル糖部分を含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーのギャップの少なくとも6つのヌクレオシドは、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーのギャップの各ヌクレオシドは、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーのギャップの少なくとも1つのヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーのギャップの少なくとも1つのヌクレオシドは、2'-OMe糖部分を含む。

30

【0182】

ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、デオキシギャップマーである。ある特定の実施形態では、各ウイング／ギャップ連結部のギャップ側のヌクレオシドは2'-デオキシリボシル糖部分を含み、各ウイング／ギャップ連結部のウイング側のヌクレオシドは修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーのギャップの少なくとも6つのヌクレオシドは、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーのギャップの各ヌクレオシドは、2'-デオキシリボシル糖部分を含む。ある特定の実施形態では、ギャップマーの各ウイングの各ヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、該ギャップの1つのヌクレオシドは、修飾糖部分を含み、該ギャップの残りの各ヌクレオシドは、2'-デオキシリボシル糖部分を含む。

40

【0183】

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、完全修飾型糖モチーフを有する部分を含むかまたはそれからなる。かかる実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドの完全修飾部分の各ヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリ

50

ゴヌクレオチド全体の各ヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、完全修飾型糖モチーフを有する部分を含むかまたはそれからなり、該完全修飾部分内の各ヌクレオシドは、本明細書では均一修飾型糖モチーフと称される同じ修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、完全修飾型オリゴヌクレオチドは、均一修飾型オリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、均一修飾型オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドは、同じ 2' 修飾を含む。

【0184】

本明細書では、ギャップマーの 3 つの領域の長さ（ヌクレオシドの数）は、表記法 [5' - ウィング中のヌクレオシドの数] - [ギャップ中のヌクレオシドの数] - [3' - ウィング中のヌクレオシドの数] を用いて提供され得る。従って、5-10-5 ギャップマーは、5 個の連結したヌクレオシドを含む各ウィング及び 10 個の連結したヌクレオシドを含むギャップからなる。かかる命名の後に特定の修飾が続く場合、その修飾は、各ウィングの各糖部分の修飾であり、該ギャップヌクレオシドは、2' - β - D - デオキシリボシル糖部分を含む。従って、5-10-5 MOE ギャップマーは、5 個の連結した 2' - MOE ヌクレオシドを含む 5' - ウィング、10 個の連結した 2' - β - D - デオキシヌクレオシドを含むギャップ、及び 5 個の連結した 2' - MOE ヌクレオシドを含む 3' - ウィングからなる。3-10-3 cet ギャップマーは、3 個の連結した cet ヌクレオシドを含む 5' - ウィング、10 個の連結した 2' - β - D - デオキシヌクレオシドを含むギャップ、及び 3 個の連結した cet ヌクレオシドを含む 3' - ウィングからなる。5-8-5 ギャップマーは、修飾糖部分を含む 5 個の連結したヌクレオシドを含む 5' - ウィング、8 個の連結した 2' - β - D - デオキシヌクレオシドを含むギャップ、及び修飾糖部分を含む 5 個の連結したヌクレオシドを含む 3' - ウィングからなる。混合ウィングギャップマーは、5' 及び / または 3' ウィングに少なくとも 2 つの異なる修飾糖部分を有する。5-8-5 または 5-8-4 混合ウィングギャップマーは、5' - 及び / または 3' - ウィングに少なくとも 2 つの異なる修飾糖部分を有する。

【0185】

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、5-10-5 MOE ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、6-10-4 MOE ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、4-10-6 MOE ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、5-8-4 MOE ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、3-10-7 MOE ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、7-10-3 MOE ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、5-8-5 MOE ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、5-9-5 MOE ギャップマーである。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、X-Y-Z MOE ギャップマーであり、ここで、X 及び Z は、独立して、1、2、3、4、5、6、または 7 個の連結した 2' - MOE ヌクレオシドから選択され、Y は、7、8、9、10、または 11 個の連結したデオキシヌクレオシドから選択される。

【0186】

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、以下の糖モチーフ（5' から 3' へ）：e e e e e d y d d d d d d d d e e e e e を有し、ここで、「d」は、2' - デオキシリボシル糖部分を表し、「e」は、2' - MOE 糖部分を表し、「y」は、2' - OMe 糖部分を表す。

【0187】

2. 特定の核酸塩基モチーフ

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、該オリゴヌクレオチドまたはその部分に沿って規定のパターンまたはモチーフで配置された修飾及び / または非修飾核酸塩基を含む。ある特定の実施形態では、各核酸塩基が修飾されている。ある特定の実施形態では、該核酸塩基のうちのいずれも修飾されない。ある特定の実施形態では、各プリンまた

は各ピリミジンが修飾される。ある特定の実施形態では、各アデニンが修飾される。ある特定の実施形態では、各グアニンが修飾される。ある特定の実施形態では、各チミンが修飾される。ある特定の実施形態では、各ウラシルが修飾される。ある特定の実施形態では、各シトシンが修飾される。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドのシトシン核酸塩基のうちのいくつかまたはすべてが5-メチルシトシンである。ある特定の実施形態では、該シトシン核酸塩基のすべては5-メチルシトシンであり、該修飾オリゴヌクレオチドの他の核酸塩基のすべては非修飾核酸塩基である。

【 0 1 8 8 】

ある特定の**実施形態**では、修飾オリゴヌクレオチドは、修飾核酸塩基のブロックを含む。ある特定の**実施形態**では、該ブロックは、該オリゴヌクレオチドの3'末端にある。ある特定の**実施形態**では、該ブロックは、該オリゴヌクレオチドの3'末端の3ヌクレオシド以内にある。ある特定の**実施形態**では、該ブロックは、該オリゴヌクレオチドの5'末端にある。ある特定の**実施形態**では、該ブロックは、該オリゴヌクレオチドの5'末端の3ヌクレオシド以内にある。

【 0 1 8 9 】

ある特定の実施形態では、ギャップマーモチーフを有するオリゴヌクレオチドは、修飾核酸塩基を含むヌクレオシドを含む。ある特定のかかる実施形態では、修飾核酸塩基を含む1つのヌクレオシドは、ギャップマーモチーフを有するオリゴヌクレオチドの中央ギャップにある。ある特定のかかる実施形態では、該ヌクレオシドの糖部分は、2'-デオキシリボシル糖部分である。ある特定の実施形態では、該修飾核酸塩基は、2-チオピリミジン及び5-プロピンピリミジンから選択される。

【 0 1 9 0 】

3. 特定のヌクレオシド間結合モチーフ

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、該オリゴヌクレオチドまたはその部分に沿って規定のパターンまたはモチーフで配置された修飾及び／または非修飾ヌクレオシド間結合を含む。ある特定の実施形態では、各ヌクレオシド間結合基は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合（ $P=O$ ）である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合基は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合（ $P=S$ ）である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合は、独立して、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合及びホスホジエステルヌクレオシド間結合から選択される。ある特定の実施形態では、各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合は、独立して、ステレオランダムホスホロチオエート、（ S_p ）ホスホロチオエート、及び（ R_p ）ホスホロチオエートから選択される。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの糖モチーフは、ギャップマーであり、該ギャップ内のヌクレオシド間結合はすべて修飾されている。ある特定のかかる実施形態では、該両ウイングにおけるヌクレオシド間結合のうちのいくつかまたはすべては、非修飾ホスホジエステルヌクレオシド間結合である。ある特定の実施形態では、末端のヌクレオシド間結合は、修飾されている。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの糖モチーフは、ギャップマーであり、該ヌクレオシド間結合モチーフは、少なくとも一方のウイングに少なくとも1つのホスホジエステルヌクレオシド間結合を含み、この少なくとも1つのホスホジエステルヌクレオシド間結合は、末端ヌクレオシド間結合ではなく、残りのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。ある特定のかかる実施形態では、該ホスホロチオエートヌクレオシド間結合のすべてが、ステレオランダムである。ある特定の実施形態では、該両ウイング内のすべてのホスホロチオエートヌクレオシド間結合は、（ S_p ）ホスホロチオエートであり、該ギャップは、少なくとも1つの S_p 、 S_p 、 R_p モチーフを含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの集団は、かかるヌクレオシド間結合モチーフを含む修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている。

【 0 1 9 1 】

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ヌクレオシド間結合モチーフ s o o o o s s s s s s s s s s o o s s を有し、ここで、各「s」は、ホスホロチオエー

10

20

30

40

50

トヌクレオシド間結合を表し、各「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合を表す。

【0192】

C. 特定の長さ

オリゴヌクレオチドの長さを、活性を排除することなく増加または減少させることが可能である。例えば、Woolf et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1992, 89:7305-7309, 1992)では、13~25個の核酸塩基長の一連のオリゴヌクレオチドが、卵母細胞注入モデルにおいて標的核酸の切断を誘導する能力について試験された。当該オリゴヌクレオチドの末端近くに8個または11個のミスマッチ塩基を含む25核酸塩基長のオリゴヌクレオチドは、ミスマッチを含まないオリゴヌクレオチドよりも低い程度であったが、標的核酸の特異的切断を導くことができた。同様に、1個または3個のミスマッチを有するものを含む13核酸塩基のオリゴヌクレオチドを使用して、標的の特異的切断が達成された。

10

【0193】

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチド（修飾オリゴヌクレオチドを含む）は、様々な長さ範囲のいずれかを有し得る。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、X~Y個の連結したヌクレオシドからなり、ここで、Xは、その範囲のヌクレオシドの最小数を表し、Yは、その範囲のヌクレオシドの最大数を表す。ある特定のかかる実施形態では、X及びYは、各々独立して、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、及び50から選択されるが、 $X \leq Y$ であることを条件とする。例えば、ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、12~13個、12~14個、12~15個、12~16個、12~17個、12~18個、12~19個、12~20個、12~21個、12~22個、12~23個、12~24個、12~25個、12~26個、12~27個、12~28個、12~29個、12~30個、13~14個、13~15個、13~16個、13~17個、13~18個、13~19個、13~20個、13~21個、13~22個、13~23個、13~24個、13~25個、13~26個、13~27個、13~28個、13~29個、13~30個、14~15個、14~16個、14~17個、14~18個、14~19個、14~20個、14~21個、14~22個、14~23個、14~24個、14~25個、14~26個、14~27個、14~28個、14~29個、14~30個、15~16個、15~17個、15~18個、15~19個、15~20個、15~21個、15~22個、15~23個、15~24個、15~25個、15~26個、15~27個、15~28個、15~29個、15~30個、16~17個、16~18個、16~19個、16~20個、16~21個、16~22個、16~23個、16~24個、16~25個、16~26個、16~27個、16~28個、16~29個、16~30個、17~18個、17~19個、17~20個、17~21個、17~22個、17~23個、17~24個、17~25個、17~26個、17~27個、17~28個、17~29個、17~30個、18~19個、18~20個、18~21個、18~22個、18~23個、18~24個、18~25個、18~26個、18~27個、18~28個、18~29個、18~30個、19~20個、19~21個、19~22個、19~23個、19~24個、19~25個、19~26個、19~27個、19~28個、19~29個、19~30個、20~21個、20~22個、20~23個、20~24個、20~25個、20~26個、20~27個、20~28個、20~29個、20~30個、21~22個、21~23個、21~24個、21~25個、21~26個、21~27個、21~28個、21~29個、21~30個、22~23個、22~24個、22~25個、22~26個、22~27個、22~28個、22~29個、22~30個、23~24個、23~25個、23~26個、23~27個、23~28個、23~29個、23~30個、24~25個、24~26個、24~27個、24~28個、24~29個

20

30

40

50

、24～30個、25～26個、25～27個、25～28個、25～29個、25～30個、26～27個、26～28個、26～29個、26～30個、27～28個、27～29個、27～30個、28～29個、28～30個、または29～30個の連結したヌクレオシドからなる。

【0194】

D．特定の修飾オリゴヌクレオチド

ある特定の実施形態では、上記の修飾（糖、核酸塩基、ヌクレオシド間結合）は、修飾オリゴヌクレオチドに組み込まれる。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、それらの修飾モチーフ及び全長によって特徴付けられる。ある特定の実施形態では、かかるパラメータは、各々互いに独立している。従って、別段の指示がない限り、ギャップマー糖モチーフを有するオリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合は、修飾されていても修飾されていなくてもよく、糖修飾のギャップマー修飾パターンに従う場合も従わない場合もある。例えば、糖ギャップマーのウイング領域内のヌクレオシド間結合は、互いに同じでも異なってもよく、糖モチーフのギャップ領域のヌクレオシド間結合と同じでも異なってもよい。同様に、かかる糖ギャップマーオリゴヌクレオチドは、糖修飾のギャップマーパターンとは無関係に1つ以上の修飾核酸塩基を含み得る。別段の指示がない限り、いずれの修飾も、核酸塩基配列とは独立している。

【0195】

E．修飾オリゴヌクレオチドの特定の集団

集団の修飾オリゴヌクレオチドがすべて同じ分子式を有する修飾オリゴヌクレオチドの集団は、ステレオランダム集団の場合もキラル濃縮集団の場合もある。すべての修飾オリゴヌクレオチドのキラル中心のすべては、ステレオランダム集団ではステレオランダムである。キラル濃縮集団において、少なくとも1つの特定のキラル中心は、該集団の修飾オリゴヌクレオチドにおいてはステレオランダムではない。ある特定の実施形態では、キラル濃縮集団の修飾オリゴヌクレオチドは、β-Dリボシル糖部分について濃縮されており、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合のすべては、ステレオランダムである。ある特定の実施形態では、キラル濃縮集団の修飾オリゴヌクレオチドは、β-Dリボシル糖部分、及び特定の立体化学的配置にある少なくとも1つの特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合の両方について濃縮されている。

【0196】

F．核酸塩基配列

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチド（非修飾または修飾オリゴヌクレオチド）は、それらの核酸塩基配列によってさらに表される。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、第二のオリゴヌクレオチドまたは同定された参照核酸、例えば、標的核酸に相補的な核酸塩基配列を有する。ある特定のかかる実施形態では、オリゴヌクレオチドの部分は、第二のオリゴヌクレオチドまたは同定された参照核酸、例えば、標的核酸に相補的な核酸塩基配列を有する。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドの部分または全長の核酸塩基配列は、第二のオリゴヌクレオチドまたは核酸、例えば、標的核酸に、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%相補的である。

【0197】

II．特定のオリゴマー化合物

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチド（修飾または非修飾）ならびに任意に1つ以上のコンジュゲート基及び／または末端基からなるオリゴマー化合物を本明細書に提供する。コンジュゲート基は、1つ以上のコンジュゲート部分及び該コンジュゲート部分をオリゴヌクレオチドに結合するコンジュゲートリンカーからなる。コンジュゲート基は、オリゴヌクレオチドの一端もしくは両末端及び／または任意の内部位置に結合され得る。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドの2'位に結合される。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドの一端または両末端に結合されたコンジュゲート基は、末端基である。ある特定のかかる実施形態では、

コンジュゲート基または末端基は、オリゴヌクレオチドの3'末端及び／または5'末端に結合される。ある特定のかかる実施形態では、コンジュゲート基（または末端基）は、オリゴヌクレオチドの3'末端に結合される。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、オリゴヌクレオチドの3'末端付近に結合される。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基（または末端基）は、オリゴヌクレオチドの5'末端に結合される。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、オリゴヌクレオチドの5'末端付近に結合される。

【0198】

末端基の例としては、コンジュゲート基、キャッピング基、リン酸部分、保護基、脱塩基ヌクレオシド、修飾または非修飾ヌクレオシド、及び独立して修飾または非修飾である2つ以上のヌクレオシドが挙げられるがこれらに限定されない。

10

【0199】

A. 特定のコンジュゲート基

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、1つ以上のコンジュゲート基に共有結合している。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、結合したオリゴヌクレオチドの薬力学的特性、薬物動態学的特性、安定性、結合、吸収、組織分布、細胞分布、細胞取り込み、電荷及びクリアランスが挙げられるがこれらに限定されない1つ以上の特性を修飾する。

【0200】

ある特定の実施形態では、1つ以上の炭水化物部分の修飾オリゴヌクレオチドへのコンジュゲーションにより、当該修飾オリゴヌクレオチドの1つ以上の特性が最適化され得る。ある特定の実施形態では、該炭水化物部分は、該修飾オリゴヌクレオチドの修飾サブユニットに結合される。例えば、修飾オリゴヌクレオチドの1つ以上のリボヌクレオチドサブユニットのリボース糖は、別の部分、例えば、炭水化物リガンドが結合した非炭水化物（好ましくは環状）担体で置き換えられ得る。サブユニットのリボース糖がそのように置き換えられたリボヌクレオチドサブユニットは、本明細書では、修飾糖部分であるリボース置換修飾サブユニット（RRMS）と呼ばれる。環状担体は、炭素環系でよく、すなわち、1つ以上の環原子は、ヘテロ原子、例えば、窒素、酸素、硫黄であり得る。該環状担体は、単環式環系の場合もあれば、2つ以上の環、例えば、縮合環を含む場合もある。該環状担体は、完全に飽和した環系の場合もあれば、1つ以上の二重結合を含む場合もある。ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。

20

30

【0201】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、結合したオリゴヌクレオチドに新たな特性、例えば、該オリゴヌクレオチドの検出を可能にするフルオロフォアまたはレポーター基を付与する。ある特定のコンジュゲート基及びコンジュゲート部分についてはこれまでに記載されており、例えば、コレステロール部分（Letsinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86, 6553-6556）、コリン酸（Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4, 1053-1060）、チオエーテル、例えばヘキシル-S-トリチルチオール（Manoharan et al., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1992, 660, 306-309、Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1993, 3, 2765-2770）、チオコレステロール（Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20, 533-538）、脂肪族鎖、例えばド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-オ-ヘキサデシル-rac-グリセロ-3-H-ホスホネート（Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654、Shea

40

50

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、パルミチル部分 (Mishra et al., Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264, 229-237)、オクタデシルアミン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)、トコフェロール基 (Nishina et al., Molecular Therapy Nucleic Acids, 2015, 4, e220、及び Nishina et al., Molecular Therapy, 2008, 16, 734-740)、または GalNAc クラスター (例えば WO2014/179620) である。

10

【0202】

ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、C22アルキル、C20アルキル、C16アルキル、C10アルキル、C21アルキル、C19アルキル、C18アルキル、C15アルキル、C14アルキル、C13アルキル、C12アルキル、C11アルキル、C9アルキル、C8アルキル、C7アルキル、C6アルキル、C5アルキル、C22アルケニル、C20アルケニル、C16アルケニル、C10アルケニル、C21アルケニル、C19アルケニル、C18アルケニル、C15アルケニル、C14アルケニル、C13アルケニル、C12アルケニル、C11アルケニル、C9アルケニル、C8アルケニル、C7アルケニル、C6アルケニル、またはC5アルケニルのいずれかから選択されるコンジュゲート部分を含み得る。

20

【0203】

ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、そのアルキル鎖が1つ以上の不飽和結合を有するC22アルキル、C20アルキル、C16アルキル、C10アルキル、C21アルキル、C19アルキル、C18アルキル、C15アルキル、C14アルキル、C13アルキル、C12アルキル、C11アルキル、C9アルキル、C8アルキル、C7アルキル、C6アルキル、またはC5アルキルのいずれかから選択されるコンジュゲート部分を含み得る。

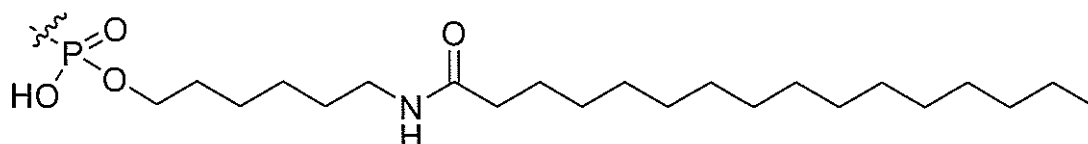
30

【0204】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、以下の構造を有する脂質である。

【0205】

【化6】



40

【0206】

1. コンジュゲート部分

コンジュゲート部分としては、インターカレーター、レポーター分子、ポリアミン、ポリアミド、ペプチド、炭水化物、ビタミン部分、ポリエチレングリコール、チオエーテル、ポリエーテル、コレステロール、チオコレステロール、コール酸部分、葉酸、脂質、親油基、リン脂質、ビオチン、フェナジン、フェナントリジン、アントラキノン、アダマンタン、アクリジン、フルオレセイン、ローダミン、クマリン、フルオロフォア、及び色素が挙げられるがこれらに限定されない。

【0207】

50

ある特定の実施形態では、コンジュゲート部分は、活性原薬、例えば、アスピリン、ワーファリン、フェニルブタゾン、イブプロフェン、スプロフェン、フェンブフェン、ケトプロフェン、(S) - (+) - プラノプロフェン、カルプロフェン、ダンシルサルコシン、2, 3, 5 - トリヨード安息香酸、フィンゴリモド、フルフェナム酸、フォルリン酸、ベンゾサイアジアザイド、クロロチアジド、ジアゼピン、インドメタシン、バルビツール酸、セファロスポリン、サルファ薬、糖尿病治療薬、抗菌薬または抗生物質を含む。

【0208】

2. コンジュゲートリンカー

コンジュゲート部分は、コンジュゲートリンカーを介してオリゴヌクレオチドに結合している。ある特定のオリゴマー化合物では、コンジュゲートリンカーは単一の化学結合である（すなわち、コンジュゲート部分は単結合を介してオリゴヌクレオチドに直接結合される）。ある特定の実施形態では、該コンジュゲートリンカーは、ヒドロカルビル鎖等の鎖構造、またはエチレングリコール、ヌクレオシド、もしくはアミノ酸単位等の繰り返し単位のオリゴマーを含む。

10

【0209】

ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、アルキル、アミノ、オキソ、アミド、ジスルフィド、ポリエチレングリコール、エーテル、チオエーテル、及びヒドロキシルアミノから選択される1つ以上の基を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲートリンカーは、アルキル基、アミノ基、オキソ基、アミド基、及びエーテル基から選択される基を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲートリンカーは、アルキル基及びアミド基から選択される基を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲートリンカーは、アルキル基及びエーテル基から選択される基を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲートリンカーは、少なくとも1つのリン部分を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲートリンカーは、少なくとも1つのリン酸基を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲートリンカーは、少なくとも1つの中性結合基を含む。

20

【0210】

ある特定の実施形態では、上記のコンジュゲートリンカーを含むコンジュゲートリンカーは、二官能性の連結部分、例えば、本明細書に提供するオリゴヌクレオチド等の親化合物にコンジュゲート基を結合させるために有用であることが当分野で既知のものである。一般に、二官能性連結部分は、少なくとも2つの官能基を含む。該官能基のうちの一方は、親化合物上の特定の部位に結合するように選択され、他方は、コンジュゲート基に結合するように選択される。二官能性連結部分に使用される官能基の例としては、求核基と反応させるための求電子剤及び求電子基と反応させるための求核剤が挙げられるがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、二官能性連結部分は、アミノ、ヒドロキシル、カルボン酸、チオール、アルキル、アルケニル、及びアルキニルから選択される1つ以上の基を含む。

30

【0211】

コンジュゲートリンカーの例としては、ピロリジン、8 - アミノ - 3, 6 - ジオキサオクタン酸 (ADO)、スクシンイミジル 4 - (N - マレイミドメチル) シクロヘキサン - 1 - カルボキシレート (SMCC)、及び 6 - アミノヘキサン酸 (AHEXまたはAHA) が挙げられるがこれらに限定されない。他のコンジュゲートリンカーとしては、置換もしくは非置換 C_{1-10} アルキル、置換もしくは非置換 C_{2-10} アルケニル、または置換もしくは非置換 C_{2-10} アルキニルが挙げられるがこれらに限定されず、ここで、好ましい置換基の非限定的なリストには、ヒドロキシル、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、ベンジル、フェニル、ニトロ、チオール、チオアルコキシ、ハロゲン、アルキル、アリール、アルケニル、及びアルキニルが含まれる。

40

【0212】

ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、1 ~ 10 個のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、2 ~ 5 個のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、1 ~ 3 個の

50

リンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、厳密に3個のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、TCAモチーフを含む。ある特定の実施形態では、かかるリンカーヌクレオシドは、修飾ヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、かかるリンカーヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、リンカーヌクレオシドは、非修飾である。ある特定の実施形態では、リンカーヌクレオシドは、プリン、置換プリン、ピリミジン、または置換ピリミジンから選択される、任意に保護される複素環式塩基を含む。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、ウラシル、チミン、シトシン、4-N-ベンゾイルシトシン、5-メチルシトシン、4-N-ベンゾイル-5-メチルシトシン、アデニン、6-N-ベンゾイルアデニン、グアニン及び2-N-イソブチルグアニンから選択されるヌクレオシドである。リンカーヌクレオシドは、標的組織に到達した後、オリゴマー化合物から切断されることが通常は望ましい。従って、リンカーヌクレオシドは通常、切断可能な結合を介して互いにかつオリゴマー化合物の残部に結合される。ある特定の実施形態では、かかる切断可能な結合は、ホスホジエステル結合である。

10

【0213】

本明細書において、リンカーヌクレオシドは、オリゴヌクレオチドの一部であるとは見なされない。従って、オリゴマー化合物が、特定の数または範囲の連結したヌクレオシド及び／または参照核酸に対する特定の相補性パーセントからなるオリゴヌクレオチドを含み、かつ該オリゴマー化合物が、リンカーヌクレオシドを含むコンジュゲートリンカーを含むコンジュゲート基も含む実施形態では、これらのリンカーヌクレオシドは、該オリゴヌクレオチドの長さにカウントされず、該参照核酸に対する該オリゴヌクレオチドの相補性パーセントを決定するうえで用いられない。例えば、オリゴマー化合物は、(1) 8〜30個のヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチド、及び(2) 修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドと連続する1〜10個のリンカーヌクレオシドを含むコンジュゲート基を含み得る。かかるオリゴマー化合物中の連続する連結したヌクレオシドの総数は30よりも多い。代替的に、オリゴマー化合物は、8〜30個のヌクレオシドからなり、コンジュゲート基を含まない修飾オリゴヌクレオチドを含んでもよい。かかるオリゴマー化合物中の連続する連結したヌクレオシドの総数は、30以下である。別段の指示がない限り、コンジュゲートリンカーは、10個以下のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、5個以下のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、3個以下のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、2個以下のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、わずか1個のリンカーヌクレオシドを含む。

20

30

【0214】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基がオリゴヌクレオチドから切断されることが望ましい。例えば、ある特定の状況において、特定のコンジュゲート部分を含むオリゴマー化合物は、特定の細胞型により取り込まれやすいが、オリゴマー化合物が取り込まれた後、コンジュゲート基が切断されて、非コンジュゲートまたは親オリゴヌクレオチドが放出されることが望ましい。従って、ある特定のコンジュゲートリンカーは、1つ以上の切断可能な部分を含み得る。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、切断可能な結合である。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、少なくとも1つの切断可能な結合を含む原子団である。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、1つ、2つ、3つ、4つ、または4つよりも多くの切断可能な結合を有する原子団を含む。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、リソソーム等の細胞の内部または細胞内区画で選択的に切断される。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、ヌクレアーゼ等の内在性酵素によって選択的に切断される。

40

【0215】

ある特定の実施形態では、切断可能な結合は、アミド、エステル、エーテル、ホスホジエステルの一方もしくは両方のエステル、リン酸エステル、カルバメート、またはジスル

50

フィドの中から選択される。ある特定の実施形態では、切断可能な結合は、ホスホジエステル的一方または両方のエステルである。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、リン酸またはホスホジエステルを含む。ある特定の実施形態では、該切断可能な部分は、オリゴヌクレオチドとコンジュゲート部分またはコンジュゲート基との間のリン酸またはホスホジエステル結合である。

【0216】

ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、1つ以上のリンカーヌクレオシドを含むかまたはそれからなる。ある特定の実施形態では、該1つ以上のリンカーヌクレオシドは、互いに及び／または切断可能な結合によってオリゴマー化合物の残りに結合される。ある特定の実施形態では、かかる切断可能な結合は、修飾されていないホスホジエステル結合である。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合によってオリゴヌクレオチドの3'または5'末端ヌクレオシドのいずれかに結合され、かつリン酸またはホスホロチオエートヌクレオシド間結合によってコンジュゲートリンカーまたはコンジュゲート部分の残りの部分に共有結合した2'-デオキシヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、該切断可能な部分は、2'-デオキシアデノシンである。

10

【0217】

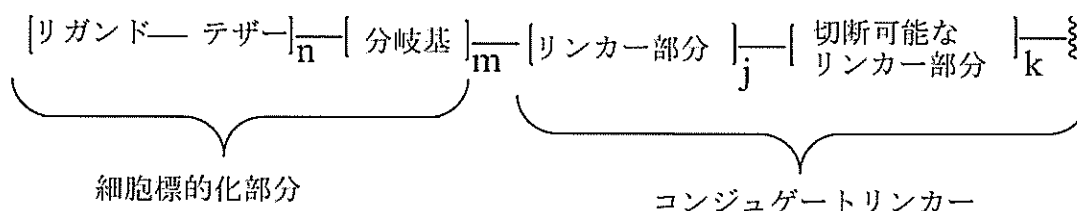
3. 細胞標的化部分

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、細胞標的化部分を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、下記の一般式を有し、

20

【0218】

【化7】



30

【0219】

式中、nは1～約3であり、nが1の場合mは0であり、nが2以上の場合mは1であり、jは1または0であり、kは1または0である。

【0220】

ある特定の実施形態では、nは1であり、jは1であり、kは0である。ある特定の実施形態では、nは1であり、jは0であり、kは1である。ある特定の実施形態では、nは1であり、jは1であり、kは1である。ある特定の実施形態では、nは2であり、jは1であり、kは0である。ある特定の実施形態では、nは2であり、jは0であり、kは1である。ある特定の実施形態では、nは2であり、jは1であり、kは1である。ある特定の実施形態では、nは3であり、jは1であり、kは0である。ある特定の実施形態では、nは3であり、jは0であり、kは1である。ある特定の実施形態では、nは3

40

【0221】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は少なくとも1つのテザリガンドを有する細胞標的化部分を含む。ある特定の実施形態では、細胞標的化部分は、分岐基に共有結合した2つのテザリガンドを含む。ある特定の実施形態では、細胞標的化部分は、分岐基に共有結合した3つのテザリガンドを含む。

【0222】

ある特定の実施形態では、細胞標的化部分の各リガンドは、標的細胞上の少なくとも1つの受容体型に親和性を有する。ある特定の実施形態では、各リガンドは、哺乳類の肝臓

50

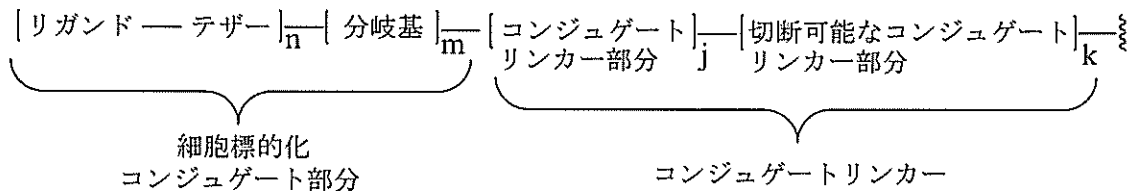
細胞の表面上の少なくとも1つの受容体型に親和性を有する。ある特定の実施形態では、各リガンドは、肝臓のアシアロ糖タンパク質受容体（ASGP-R）に親和性を有する。ある特定の実施形態では、各リガンドは、炭水化物である。

【0223】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、細胞標的化コンジュゲート部分を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、下記の一般式を有し、

【0224】

【化8】



10

【0225】

式中、 n は1～約3であり、 n が1の場合 m は0であり、 n が2以上の場合 m は1であり、 j は1または0であり、 k は1または0である。

【0226】

ある特定の実施形態では、 n は1であり、 j は1であり、 k は0である。ある特定の実施形態では、 n は1であり、 j は0であり、 k は1である。ある特定の実施形態では、 n は1であり、 j は1であり、 k は1である。ある特定の実施形態では、 n は2であり、 j は1であり、 k は0である。ある特定の実施形態では、 n は2であり、 j は0であり、 k は1である。ある特定の実施形態では、 n は2であり、 j は1であり、 k は1である。ある特定の実施形態では、 n は3であり、 j は1であり、 k は0である。ある特定の実施形態では、 n は3であり、 j は0であり、 k は1である。ある特定の実施形態では、 n は3であり、 j は1であり、 k は1である。

20

【0227】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は少なくとも1つのテザリガンドを有する細胞標的化部分を含む。ある特定の実施形態では、細胞標的化部分は、分岐基に共有結合した2つのテザリガンドを含む。ある特定の実施形態では、細胞標的化部分は、分岐基に共有結合した3つのテザリガンドを含む。

30

【0228】

B. 特定の末端基

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、1つ以上の末端基を含む。ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、安定化5'-リン酸を含む。安定化5'-リン酸としては、5'-ホスホネートが挙げられるがこれに限定されず、5'-ホスホネートとしては、5'-ビニルホスホネートが挙げられるがこれに限定されない。ある特定の実施形態では、末端基は、1つ以上の脱塩基ヌクレオシド及び／または反転ヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、末端基は、1つ以上の2'連結ヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、該2'連結ヌクレオシドは、脱塩基ヌクレオシドである。

40

【0229】

III. オリゴマー二重鎖

ある特定の実施形態では、本明細書に記載のオリゴマー化合物は、標的核酸の核酸塩基配列に相補的な核酸塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを含む。ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、第二のオリゴマー化合物と対合してオリゴマー二重鎖を形成する。かかるオリゴマー二重鎖は、標的核酸に相補的な部分を有する第一のオリゴマー化合物及び該第一のオリゴマー化合物に相補的な部分を有する第二のオリゴマー化合物を含む。ある特定の実施形態では、該オリゴマー二重鎖の第一のオリゴマー化合物は、(1)修

50

飾または非修飾オリゴヌクレオチド及び任意にコンジュゲート基ならびに（２）第二の修飾または非修飾オリゴヌクレオチド及び任意にコンジュゲート基を含むかまたはそれからなる。オリゴマー二重鎖のいずれかまたは両方のオリゴマー化合物は、コンジュゲート基を含み得る。オリゴマー二重鎖の各オリゴマー化合物のオリゴヌクレオチドは、非相補的オーバーハングヌクレオシドを含み得る。

【０２３０】

特定のオリゴマー二重鎖

ある特定の実施形態は、第一のオリゴマー化合物及び第二のオリゴマー化合物を含むオリゴマー二重鎖を対象とする。

【０２３１】

ある特定の実施形態では、オリゴマー二重鎖は、以下を含む：

１２～５０個の連結したヌクレオシドからなり、配列番号１０～４７７のいずれかの少なくとも１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、または２０個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する第一の修飾オリゴヌクレオチドを含む第一のオリゴマー化合物、及び

１２～５０個の連結したヌクレオシドからなる第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物、ここで、該第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの等長部分に少なくとも９０％相補的である少なくとも８個の核酸塩基の相補的領域を含む。ある特定の実施形態では、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、ＣＨＭＰ７核酸の等長部分に少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または１００％相補的である。

【０２３２】

ある特定の実施形態では、オリゴマー二重鎖は、以下を含む：

１２～３０個の連結したヌクレオシドからなり、配列番号１の核酸塩基３９５０～３９８３、４２４２～４２６６、４４８０～４５２５、４５３４～４５６６、５２０５～５２３２、５４０４～５４３０、８３２３～８３４４、１６９２７～１６９５０、１７２９８～１７３４０、または１８２８７～１８３１３内の等長部分に相補的な少なくとも８、少なくとも９、少なくとも１０、少なくとも１１、少なくとも１２、少なくとも１３、少なくとも１４、少なくとも１５、少なくとも１６、少なくとも１７、少なくとも１８、少なくとも１９、または少なくとも２０個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する第一の修飾オリゴヌクレオチドを含む第一のオリゴマー化合物、及び

１２～３０個の連結したヌクレオシドからなる第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物、ここで、該第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの等長部分に少なくとも９０％相補的である少なくとも８個の核酸塩基の相補的領域を含む。ある特定の実施形態では、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、ＣＨＭＰ７核酸の等長部分に少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または１００％相補的である。

【０２３３】

ある特定の実施形態では、オリゴマー二重鎖は、以下を含む：

１２～５０個の連結したヌクレオシドからなり、配列番号１０～４７７のいずれかの少なくとも１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、または２０個の連続する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する第一の修飾オリゴヌクレオチドを含む第一のオリゴマー化合物、ここで、各チミンがウラシルで置き換えられているもの、及び

１２～５０個の連結したヌクレオシドからなる第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物、ここで、該第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの等長部分に少なくとも９０％相補的である少なくとも８個の核酸塩基の相補的領域を含む。ある特定の実施形態では、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、少なくとも８５％、少なくとも９０％である。ある特定の実施形態では、該第一のオリゴマー化合物は、アンチセンス化合物である。ある特定の実施形態では、該第一の修飾オリゴヌクレオチドは、アンチセンスオリゴヌクレオチドである。あ

10

20

30

40

50

る特定の実施形態では、該第二のオリゴマー化合物は、センス化合物である。ある特定の実施形態では、該第二の修飾オリゴヌクレオチドは、センスオリゴヌクレオチドである。

【0234】

ある特定の実施形態では、オリゴマー二重鎖は、以下を含む：

16～50個の連結したヌクレオシドからなる第一の修飾オリゴヌクレオチドを含む第一のオリゴマー化合物、ここで、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基は、配列番号10～477のいずれかの核酸塩基を含み、各チミンがウラシルで置き換えられているもの、及び

16～50個の連結したヌクレオシドからなる第二の修飾オリゴヌクレオチドを含む第二のオリゴマー化合物、ここで、該第二の修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの等長部分に少なくとも90%相補的である少なくとも16個の核酸塩基の相補的領域を含む。

10

【0235】

ある特定の実施形態では、該第一のオリゴマー化合物は、アンチセンス化合物である。ある特定の実施形態では、該第一のオリゴヌクレオチドは、アンチセンスオリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、該第二のオリゴマー化合物は、センス化合物である。ある特定の実施形態では、該第二の修飾オリゴヌクレオチドは、センスオリゴヌクレオチドである。

【0236】

本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかにおいて、該第一の修飾オリゴヌクレオチド及び／または該第二の修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシドは、修飾糖部分を含み得る。適切な修飾糖部分の例としては、二環式糖部分、例えば、 $-O-CH_2-$ 及び $-O-CH(CH_3)-$ から選択される2'-4'架橋、ならびに非二環式糖部分、例えば、2'-MOE修飾糖部分、2'-F修飾糖部分、または2'-OMe修飾糖部分が挙げられるがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、該第一の修飾オリゴヌクレオチド及び／または該第二の修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドの少なくとも80%、少なくとも90%、または100%は、2'-F及び2'-OMeから選択される修飾糖部分を含む。

20

【0237】

本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかにおいて、該第一の修飾オリゴヌクレオチド及び／または該第二の修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシドは、糖サロゲートを含み得る。適切な糖サロゲートの例としては、モルホリノ、ペプチド核酸(PNA)、グリコール核酸(GNA)、及びアンロックド核酸(UNA)が挙げられるがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシドは、糖サロゲートを含み、それはGNAであり得る。

30

【0238】

本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかにおいて、該第一の修飾オリゴヌクレオチド及び／または該第二の修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシド間結合は、修飾ヌクレオシド間結合を含み得る。ある特定の実施形態では、該修飾ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。ある特定の実施形態では、該第一の修飾オリゴヌクレオチドの5'末端及び／または3'末端から一番目、二番目、または三番目のヌクレオシド間結合のうちの少なくとも1つは、ホスホロチオエート結合を含む。ある特定の実施形態では、該第二の修飾オリゴヌクレオチドの5'末端及び／または3'末端から一番目、二番目、または三番目のヌクレオシド間結合のうちの少なくとも1つは、ホスホロチオエート結合を含む。

40

【0239】

本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかにおいて、該第一の修飾オリゴヌクレオチド及び／または該第二の修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシド間結合は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合を含み得る。

【0240】

50

本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかにおいて、該第一の修飾オリゴヌクレオチド及び／または該第二の修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合は、独立して、ホスホジエステルヌクレオシド間結合またはホスホロチオエートヌクレオシド間結合から選択され得る。

【0241】

本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかにおいて、該第一の修飾オリゴヌクレオチド及び／または該第二の修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも1つの核酸塩基は、修飾核酸塩基であり得る。ある特定の実施形態では、該修飾核酸塩基は、5-メチルシトシンである。

【0242】

本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかにおいて、該第一の修飾オリゴヌクレオチドは、最も5'側のヌクレオシドの5'位に結合した安定化リン酸基を含み得る。ある特定の実施形態では、該安定化リン酸基は、シクロプロピルホスホネートまたは(E)-ビニルホスホネートを含む。

【0243】

本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかにおいて、該第一の修飾オリゴヌクレオチドは、コンジュゲート基を含み得る。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、コンジュゲートリンカー及びコンジュゲート部分を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、該第一の修飾オリゴヌクレオチドに該第一の修飾オリゴヌクレオチドの5'末端で結合される。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、該第一の修飾オリゴヌクレオチドに該修飾オリゴヌクレオチドの3'末端で結合される。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、N-アセチルガラクトサミンを含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、トランスフェリン受容体(TfR)、別名TfR1及びCD71に対して親和性を有する細胞標的化部分を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、抗TfR1抗体またはその断片を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、TfR1を結合することが可能なタンパク質またはペプチドを含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、TfR1を結合することが可能なアプタマーを含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、C22アルキル、C20アルキル、C16アルキル、C10アルキル、C21アルキル、C19アルキル、C18アルキル、C15アルキル、C14アルキル、C13アルキル、C12アルキル、C11アルキル、C9アルキル、C8アルキル、C7アルキル、C6アルキル、C5アルキル、C22アルケニル、C20アルケニル、C16アルケニル、C10アルケニル、C21アルケニル、C19アルケニル、C18アルケニル、C15アルケニル、C14アルケニル、C13アルケニル、C12アルケニル、C11アルケニル、C9アルケニル、C8アルケニル、C7アルケニル、C6アルケニル、またはC5アルケニルのいずれかから選択されるコンジュゲート部分を含み得る。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、そのアルキル鎖が1つ以上の不飽和結合を有するC22アルキル、C20アルキル、C16アルキル、C10アルキル、C21アルキル、C19アルキル、C18アルキル、C15アルキル、C14アルキル、C13アルキル、C12アルキル、C11アルキル、C9アルキル、C8アルキル、C7アルキル、C6アルキル、またはC5アルキルのいずれかから選択されるコンジュゲート部分を含み得る。

【0244】

本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかにおいて、該第二の修飾オリゴヌクレオチドは、コンジュゲート基を含み得る。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、コンジュゲートリンカー及びコンジュゲート部分を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、該第二の修飾オリゴヌクレオチドに該第二の修飾オリゴヌクレオチドの5'末端で結合される。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、該第二の修飾オリゴヌクレオチドに該修飾オリゴヌクレオチドの3'末端で結合される。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、N-アセチルガラクトサミンを含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、トランスフェリン受容体(TfR)、別名Tf

10

20

30

40

50

R 1 及び C D 7 1 に対して親和性を有する細胞標的化部分を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、抗 T f R 1 抗体またはその断片を含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、T f R 1 を結合することが可能なタンパク質またはペプチドを含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、T f R 1 を結合することが可能なアプタマーを含む。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、C 2 2 アルキル、C 2 0 アルキル、C 1 6 アルキル、C 1 0 アルキル、C 2 1 アルキル、C 1 9 アルキル、C 1 8 アルキル、C 1 5 アルキル、C 1 4 アルキル、C 1 3 アルキル、C 1 2 アルキル、C 1 1 アルキル、C 9 アルキル、C 8 アルキル、C 7 アルキル、C 6 アルキル、C 5 アルキル、C 2 2 アルケニル、C 2 0 アルケニル、C 1 6 アルケニル、C 1 0 アルケニル、C 2 1 アルケニル、C 1 9 アルケニル、C 1 8 アルケニル、C 1 5 アルケニル、C 1 4 アルケニル、C 1 3 アルケニル、C 1 2 アルケニル、C 1 1 アルケニル、C 9 アルケニル、C 8 アルケニル、C 7 アルケニル、C 6 アルケニル、または C 5 アルケニルのいずれかから選択されるコンジュゲート部分を含み得る。ある特定の実施形態では、該コンジュゲート基は、そのアルキル鎖が 1 つ以上の不飽和結合を有する C 2 2 アルキル、C 2 0 アルキル、C 1 6 アルキル、C 1 0 アルキル、C 2 1 アルキル、C 1 9 アルキル、C 1 8 アルキル、C 1 5 アルキル、C 1 4 アルキル、C 1 3 アルキル、C 1 2 アルキル、C 1 1 アルキル、C 9 アルキル、C 8 アルキル、C 7 アルキル、C 6 アルキル、または C 5 アルキルのいずれかから選択されるコンジュゲート部分を含み得る。

10

【 0 2 4 5 】

ある特定の実施形態では、アンチセンス剤は、アンチセンス化合物を含み、これは、本明細書に記載のオリゴマー化合物またはオリゴマー二重鎖を含む。ある特定の実施形態では、本明細書に記載のオリゴマー化合物またはオリゴマー二重鎖を含み得るアンチセンス剤は、R I S C / A g o 2 の活性化により C H M P 7 核酸の量を低減することが可能な R N A i 剤である。

20

【 0 2 4 6 】

ある特定の実施形態は、2 つ以上のオリゴマー二重鎖を含むオリゴマー剤を提供する。ある特定の実施形態では、オリゴマー剤は、本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかの 2 つ以上を含む。ある特定の実施形態では、オリゴマー剤は、2 つ以上の同じオリゴマー二重鎖を含み、これは、本明細書に記載のオリゴマー二重鎖のいずれかであり得る。ある特定の実施形態では、該 2 つ以上のオリゴマー二重鎖は、合わせて結合される。ある特定の実施形態では、該 2 つ以上のオリゴマー二重鎖は、合わせて共有結合される。ある特定の実施形態では、該 2 つ以上のオリゴマー二重鎖の第二の修飾オリゴヌクレオチドは、合わせて共有結合される。ある特定の実施形態では、該 2 つ以上のオリゴマー二重鎖の第二の修飾オリゴヌクレオチドは、合わせてそれらの 3 ' 末端で共有結合される。ある特定の実施形態では、該 2 つ以上のオリゴマー二重鎖は、グリコールリンカー、例えば、テトラエチレングリコールリンカーによって合わせて共有結合される。ある特定のかかる化合物は、例えば、A l t e r m a n , e t a l . , N a t u r e B i o t e c h . , 3 7 : 8 4 4 - 8 9 4 , 2 0 1 9 . に記載されており、C H M P 7 核酸の等長部分に少なくとも 9 5 %、または 1 0 0 % 相補的である。

30

【 0 2 4 7 】

40

I V . アンチセンス活性

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物及びオリゴマー二重鎖は、標的核酸にハイブリダイズすることで少なくとも 1 つのアンチセンス活性を与えることが可能である。かかるオリゴマー化合物及びオリゴマー二重鎖は、アンチセンス化合物である。ある特定の実施形態では、アンチセンス化合物は、標準的なインビトロアッセイにおいて標的核酸の量または活性を 2 5 % 以上低減する場合にアンチセンス活性を有する。ある特定の実施形態では、アンチセンス化合物は、1 つ以上の標的核酸に選択的に作用する。かかるアンチセンス化合物は、1 つ以上の標的核酸にハイブリダイズして 1 つ以上の所望のアンチセンス活性を与え、かつ 1 つ以上の非標的核酸にはハイブリダイズしないか、または重大な望ましくないアンチセンス活性をもたらすような形で 1 つ以上の非標的核酸にハイブリダイ

50

ズしない核酸塩基配列を含む。

【0248】

ある特定のアンチセンス活性では、標的核酸へのアンチセンス化合物のハイブリダイゼーションは、該標的核酸を切断するタンパク質の動員をもたらす。例えば、ある特定のアンチセンス化合物は、RNase Hを介した標的核酸の切断をもたらす。RNase Hは、RNA：DNA二重鎖のRNA鎖を切断する細胞性エンドヌクレアーゼである。かかるRNA：DNA二重鎖のDNAは、非修飾DNAである必要はない。ある特定の実施形態では、RNase H活性を誘発するうえで十分に「DNA様」のアンチセンス化合物を本明細書に記載する。ある特定の実施形態では、ギャップマーのギャップ内で1つ以上の非DNA様ヌクレオシドが許容される。

10

【0249】

ある特定のアンチセンス活性では、アンチセンス化合物またはアンチセンス化合物の部分は、RNA誘導サイレンシング複合体(RISC)に取り込まれ、最終的に標的核酸の切断をもたらす。例えば、ある特定のアンチセンス化合物は、アルゴノートによる標的核酸の切断をもたらす。RISCに取り込まれるアンチセンス化合物は、RNAi化合物である。RNAi化合物は、二本鎖(siRNA)の場合も一本鎖(ssRNA)の場合もある。

【0250】

ある特定の実施形態では、アンチセンス化合物の標的核酸へのハイブリダイゼーションは、その標的核酸を切断するタンパク質の動員をもたらさない。ある特定の実施形態では、該アンチセンス化合物の該標的核酸へのハイブリダイゼーションは、該標的核酸のスプライシングの変化をもたらす。ある特定の実施形態では、標的核酸へのアンチセンス化合物のハイブリダイゼーションは、該標的核酸とタンパク質または他の核酸との結合相互作用の阻害をもたらす。ある特定の実施形態では、アンチセンス化合物の標的核酸へのハイブリダイゼーションは、該標的核酸の翻訳の変化をもたらす。

20

【0251】

アンチセンス活性は、直接的または間接的に観察され得る。ある特定の実施形態では、アンチセンス活性の観察または検出は、標的核酸の量もしくはかかる標的核酸によってコードされるタンパク質の量の変化、核酸もしくはタンパク質のスプライスバリエーションの比率の変化、及び／または細胞もしくは対象における表現型の変化を観察または検出することを伴う。

30

【0252】

V. 特定の標的核酸

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、標的核酸に相補的な部分を含むオリゴヌクレオチドを含むかまたはそれからなる。ある特定の実施形態では、該標的核酸は、内在性RNA分子である。ある特定の実施形態では、該標的核酸は、タンパク質をコードする。ある特定のかかる実施形態では、該標的核酸は、成熟mRNA及びpre-mRNA（イントロン、エクソン、及び非翻訳領域を含む）から選択される。ある特定の実施形態では、該標的核酸は、成熟mRNAである。ある特定の実施形態では、該標的核酸は、pre-mRNAである。ある特定の実施形態では、該標的領域は、完全にイントロン内にある。ある特定の実施形態では、該標的領域は、イントロン／エクソン接合部にまたがる。ある特定の実施形態では、該標的領域は、イントロン内に少なくとも50%位置する。

40

【0253】

A. 標的核酸に対する相補性／ミスマッチ

活性を消失させることなくミスマッチ塩基を導入することが可能である。例えば、Gautschi et al (J. Natl. Cancer Inst. 93:463-471, March 2001)は、bcl-2 mRNAに対して100%の相補性を有し、かつbcl-xL mRNAに対して3つのミスマッチを有するオリゴヌクレオチドが、インビトロ及びインビボでbcl-2とbcl-xLの両方の発現を低減できることを実証した。さらに、このオリゴヌクレオチドは、インビボで強力な抗腫瘍活性も示した

50

。Maher及びDolnick (Nuc. Acid. Res. 16: 3341-3358, 1988) は、一連の核酸塩基14個からなるタンデムオリゴヌクレオチド、ならびにそれぞれ、2つまたは3つの該タンデムオリゴヌクレオチド配列を含む28個及び42個の核酸塩基のオリゴヌクレオチドを、ウサギ網状赤血球アッセイにおいてヒトDHFRの翻訳を停止させる能力について試験した。これら3つの14個の核酸塩基のオリゴヌクレオチドの各々は単独で翻訳を阻害することができたが、28個または42個の核酸塩基のオリゴヌクレオチドよりもレベルは低かった。

【0254】

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、該オリゴヌクレオチドの全長にわたって標的核酸に相補的である。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、標的核酸に99%、95%、90%、85%、または80%相補的である。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、該オリゴヌクレオチドの全長にわたって標的核酸に少なくとも80%相補的であり、標的核酸に100%または完全に相補的な部分を含む。ある特定の実施形態では、該完全な相補性の部分は、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、または24核酸塩基長である。

10

【0255】

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、標的核酸に対して1つ以上のミスマッチ核酸塩基を含む。ある特定の実施形態では、標的に対するアンチセンス活性は、かかるミスマッチによって低減されるが、非標的に対する活性はより大きく低減される。従って、ある特定の実施形態では、該オリゴヌクレオチドの選択性が改善される。ある特定の実施形態では、該ミスマッチは、ギャップマーモチーフを有するオリゴヌクレオチド内に特異的に配置される。ある特定の実施形態では、該ミスマッチは、ギャップ領域の5'末端から1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または11位にある。ある特定の実施形態では、該ミスマッチは、5'ウイング領域または3'ウイング領域の5'末端から1、2、3、4、5、または6位にある。

20

【0256】

B. CHMP7

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、標的核酸に相補的なオリゴヌクレオチドを含むかまたはそれからなり、該標的核酸は、CHMP7核酸である。ある特定の実施形態では、該CHMP7核酸は、配列番号1 (ENSEMBL Gene ID ENSG00000147457.14、ENSEMBL Release 101: August 2020) または配列番号2 (GENBANKアクセッション番号NM_152272.5) に示される核酸塩基配列を有する。

30

【0257】

ある特定の実施形態では、細胞を配列番号1または配列番号2に相補的なオリゴマー化合物と接触させることにより、CHMP7 RNAの量が減少し、ある特定の実施形態では、CHMP7タンパク質の量が減少する。ある特定の実施形態では、細胞を配列番号1または配列番号2に相補的なオリゴマー化合物と接触させることにより、細胞のCHMP7 RNAの量が減少し、ある特定の実施形態では、細胞のCHMP7タンパク質の量が減少する。ある特定の実施形態では、該細胞はインビトロである。ある特定の実施形態では、該オリゴマー化合物は、修飾オリゴヌクレオチドからなる。

40

【0258】

ある特定の実施形態では、配列番号1または配列番号2に相補的なオリゴマー化合物は、インビトロで検出可能なCHMP7 RNAの量を、標準的なインビトロアッセイにおいて少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、または少なくとも90%低減することが可能である。ある特定の実施形態では、配列番号1または配列番号2に相補的なオリゴマー化合物は、インビトロで検出可能なCHMP7タンパク質の量を、標準的なインビトロアッセイにおいて少なくとも10%、少なくとも20%、少な

50

くとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、または少なくとも90%低減することが可能である。ある特定の
実施形態では、配列番号1または配列番号2に相補的なオリゴマー化合物は、インビボ
で検出可能なCHMP7 RNAの量を、少なくとも10%、少なくとも20%、少なく
とも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70
%、少なくとも80%、または少なくとも90%低減することが可能である。ある特定の
実施形態では、配列番号1または配列番号2に相補的なオリゴマー化合物は、インビボで
検出可能なCHMP7タンパク質の量を、少なくとも10%、少なくとも20%、少なく
とも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70
%、少なくとも80%、または少なくとも90%低減することが可能である。ある特定の
実施形態では、配列番号1または配列番号2に相補的なオリゴマー化合物は、対象のCS
Fで検出可能なCHMP7 RNAの量を、少なくとも10%、少なくとも20%、少なく
とも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70
%、少なくとも80%、または少なくとも90%低減することが可能である。ある特定の
実施形態では、配列番号1または配列番号2に相補的なオリゴマー化合物は、対象のCS
Fで検出可能なCHMP7タンパク質の量を、少なくとも10%、少なくとも20%、
少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なく
とも70%、少なくとも80%、または少なくとも90%低減することが可能である。

10

【0259】

VI. 特定の医薬組成物

20

ある特定の実施形態では、1つ以上のオリゴマー化合物を含む医薬組成物を本明細書に
提供する。ある特定の実施形態では、該1つ以上のオリゴマー化合物は、各々修飾オリゴ
ヌクレオチドからなる。ある特定の実施形態では、該医薬組成物は、医薬的に許容される
希釈剤または担体を含む。ある特定の実施形態では、医薬組成物は、滅菌生理食塩水及び
1つ以上のオリゴマー化合物を含むかまたはそれらからなる。ある特定の実施形態では、
該滅菌生理食塩水は、医薬品グレードの生理食塩水である。ある特定の実施形態では、医
薬組成物は、1つ以上のオリゴマー化合物及び滅菌水を含むかまたはそれらからなる。あ
る特定の実施形態では、該滅菌水は、医薬品グレードの水である。ある特定の実施形態で
は、医薬組成物は、1つ以上のオリゴマー化合物及びリン酸緩衝生理食塩水（PBS）を
含むかまたはそれらからなる。ある特定の実施形態では、該滅菌PBSは、医薬品グレー
ドのPBSである。ある特定の実施形態では、医薬組成物は、1つ以上のオリゴマー化
合物及び人工脳脊髄液（「人工CSF」または「aCSF」）を含むかまたはそれらからな
る。ある特定の実施形態では、該人工脳脊髄液は、医薬品グレードである。

30

【0260】

ある特定の実施形態では、医薬組成物は、修飾オリゴヌクレオチド及び人工脳脊髄液（
aCSF）を含む。ある特定の実施形態では、医薬組成物は、修飾オリゴヌクレオチド及
び人工脳脊髄液からなる。ある特定の実施形態では、医薬組成物は、修飾オリゴヌクレオ
チド及び人工脳脊髄液から本質的になる。ある特定の実施形態では、該人工脳脊髄液は、
医薬品グレードである。

【0261】

40

ある特定の実施形態では、aCSFは、塩化ナトリウム、塩化カリウム、リン酸二水素
ナトリウム二水和物、無水二塩基性リン酸ナトリウム、塩化カルシウム二水和物、及び塩
化マグネシウム六水和物を含む。ある特定の実施形態では、aCSF溶液のpHは、適切
なpH調整剤によって、例えば、塩酸等の酸及び水酸化ナトリウム等のアルカリによって
、約7.1～7.3の範囲、または約7.2に調節される。

【0262】

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

50

ら選択される。

【0263】

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、医薬組成物または製剤の調製のために医薬的に許容される活性及び／または不活性物質と混合されてもよい。医薬組成物を製剤化するための組成物及び方法は、投与経路、疾患の程度、または投与される用量が挙げられるがこれらに限定されないいくつかの基準に依存する。

【0264】

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物を含む医薬組成物は、該オリゴマー化合物の任意の医薬的に許容される塩、該オリゴマー化合物のエステル、またはかかるエステルの塩を包含する。ある特定の実施形態では、1つ以上のオリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物を含む医薬組成物は、ヒトを含めた対象への投与時に、生物学的に活性な代謝産物またはその残渣を（直接的または間接的に）提供することが可能である。従って、例えば、本開示は、オリゴマー化合物の医薬的に許容される塩、プロドラッグ、かかるプロドラッグの医薬的に許容される塩、及び他の生物学的等価物にも関する。ある特定の実施形態では、医薬的に許容される塩は、1価または2価の無機塩等の無機塩を含む。適切な医薬的に許容される塩としては、ナトリウムならびに、カリウム、カルシウム、及びマグネシウム塩が挙げられるがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、プロドラッグは、オリゴヌクレオチドに結合している1つ以上のコンジュゲート基を含み、該コンジュゲート基は、体内で内在性ヌクレアーゼによって切断される。

10

【0265】

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、凍結乾燥され、ナトリウム塩として単離される。ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物のナトリウム塩は、医薬的に許容される希釈剤と混合される。ある特定の実施形態では、該医薬的に許容される希釈剤は、滅菌生理食塩水、滅菌水、PBS、またはaCSFを含む。ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物のナトリウム塩は、PBSと混合される。ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物のナトリウム塩は、aCSFと混合される。

20

【0266】

脂質部分は、様々な方法で核酸療法において使用されている。ある特定のかかる方法において、オリゴマー化合物等の核酸は、カチオン性脂質と中性脂質との混合物でできた予め形成されたりポソームまたはリポプレックスに導入される。ある特定の方法において、モノまたはポリカチオン性脂質とのDNA複合体は、中性脂質の非存在下で形成される。ある特定の実施形態では、脂質部分は、特定の細胞または組織への薬剤の分布を増加させるように選択される。ある特定の実施形態では、脂質部分は、脂肪組織への薬剤の分布を増加させるように選択される。ある特定の実施形態では、脂質部分は、筋組織への薬剤の分布を増加させるように選択される。

30

【0267】

ある特定の実施形態では、医薬組成物は、送達系を含む。送達系の例としては、リポソーム及びエマルジョンが挙げられるがこれらに限定されない。ある特定の送達系は、疎水性化合物を含むものを含めたある特定の医薬組成物の調製に有用である。ある特定の実施形態では、ジメチルスルホキシド等のある特定の有機溶媒が用いられる。

40

【0268】

ある特定の実施形態では、医薬組成物は、特定の組織または細胞型に、本明細書に提供するオリゴマー化合物を含む1つ以上の薬剤を送達するように設計された1つ以上の組織特異的送達分子を含む。例えば、ある特定の実施形態では、医薬組成物は、組織特異的抗体でコーティングされたりポソームを含む。

【0269】

ある特定の実施形態では、医薬組成物は、共溶媒系を含む。ある特定のかかる共溶媒系は、例えば、ベンジルアルコール、非極性界面活性剤、水混和性有機ポリマー、及び水相を含む。ある特定の実施形態では、かかる共溶媒系は、疎水性化合物に使用される。かかる共溶媒系の非限定的な例はVPD共溶媒系であり、これは、3% w/vのベンジルアル

50

コール、8%w/vの非極性界面活性剤Polysorbate 80（商標）及び65%w/vのポリエチレングリコール300を含む無水エタノールの溶液である。かかる共溶媒系の割合は、それらの溶解性及び毒性を著しく変えることがなければ、大幅に変化させてもよい。さらに、共溶媒成分の同一性は、変化してもよく、例えば、他の界面活性剤をPolysorbate 80（商標）の代わりに使用してもよく、ポリエチレングリコールの画分サイズを変化させてもよく、他の生体適合性ポリマー、例えば、ポリビニルピロリドンでポリエチレングリコールを置き換えてもよく、他の糖または多糖類でデキストロースを置換してもよい。

【0270】

ある特定の実施形態では、医薬組成物は、経口投与用に調製される。ある特定の実施形態では、医薬組成物は、頬側投与用に調製される。ある特定の実施形態では、医薬組成物は、注射（例えば、静脈内、皮下、筋肉内、髄腔内（IT）、脳室内（ICV）、神経内、神経周囲等）による投与用に調製される。ある特定のかかる実施形態では、医薬組成物は、担体を含み、水溶液、例えば、水または生理学的に適合する緩衝液、例えば、ハンクス溶液、リンガー溶液、もしくは生理食塩水の緩衝液で製剤化される。ある特定の実施形態では、他の成分が含まれる（例えば、溶解性を補助するか、または防腐剤として役立つ成分）。ある特定の実施形態では、注射可能な懸濁液は、適切な液体担体、懸濁剤等を使用して調製される。注射用のある特定の医薬組成物は、単位剤形、例えば、アンプルまたは複数回投与容器に含まれる。注射用のある特定の医薬組成物は、油性または水性媒体の懸濁液、溶液、またはエマルジョンであり、懸濁剤、安定化剤、及び／または分散剤等の製剤化剤を含み得る。注射用の医薬組成物における使用に適したある特定の溶媒としては、親油性溶媒及び脂肪油、例えば、ゴマ油、合成脂肪酸エステル、例えば、オレイン酸エチルまたはトリグリセリド、及びリポソームが挙げられるがこれらに限定されない。

【0271】

ある特定の条件下では、本明細書で開示するある特定の化合物は、酸として機能する。かかる化合物は、プロトン化された（遊離酸）形態で、またはイオン化されてカチオンと会合する（塩）形態で描写または記載され得るが、かかる化合物の水溶液は、かかる形態の間で平衡状態で存在する。例えば、水溶液中のオリゴヌクレオチドのリン酸結合は、遊離酸、アニオン及び塩形態の間で平衡状態で存在する。別段の指示がない限り、本明細書に開示する化合物は、すべてのかかる形態を含むことが意図される。さらに、ある特定のオリゴヌクレオチドは、いくつかのかかる結合を有し、その各々は均衡状態にある。従って、溶液中のオリゴヌクレオチドは、複数の位置ですべて均衡状態である形態の集合として存在する。「オリゴヌクレオチド」という用語は、すべてのかかる形態を含むことを意図する。図示される構造は、必然的に単一の形態を示す。それにもかかわらず、別段の指示がない限り、かかる図面は、同様に対応する形態を含むことを意図する。本明細書では、「またはその塩」または「またはその医薬的に許容される塩」という用語が後に続く化合物の遊離酸を示す構造は、完全または部分的にプロトン化され得る／脱プロトン化され得る／カチオンまたはカチオンの組み合わせと会合し得るすべてのかかる形態を明示的に含む。ある特定の実施形態では、1つ以上の特定のカチオンが特定される。該カチオンとしては、ナトリウム、カリウム、カルシウム、及びマグネシウムが挙げられるがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、「またはその医薬的に許容される塩」という用語が後に続く化合物の遊離酸を示す構造は、完全または部分的にプロトン化され得る／脱プロトン化され得る／ナトリウム、カリウム、カルシウム、及びマグネシウムから選択される1つ以上のカチオンと会合し得るすべての形態を明示的に含む。

【0272】

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物は、ナトリウムとともに水溶液に含まれる。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物は、カリウムとともに水溶液に含まれる。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物は、PBSに含まれる。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物は、水に含まれる。ある特定

【 0 2 7 3 】

ある特定の実施形態では、以下に特定する範囲内の核酸塩基は、CHMP7核酸のホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、CHMP7核酸のホットスポット領域に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準的なインビトロアッセイにおいて、平均でCHMP7 RNAの60%を超える低減を達成する。

1. 配列番号1の核酸塩基3950~3983

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基3950～3983は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基3950～3983内の部分に相補的である。ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドは、20核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、MOEギャップマーである。ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドの全ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合及びホスホジエステルヌクレオシド間結合である。ある特定の実施形態では、該ホスホジエステル（「o」）及びホスホロチオエート（「s」）ヌクレオシド間結合は、5'から3'の順に、sooooo ssssssssssssoossで配置され、ここで、各「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表し、各「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合を表す。

【 0 2 7 5 】

配列番号 220、302、及び 345 の核酸塩基配列は、配列番号 1 の核酸塩基 3950～3983 の部分に相補的である。

【 0 2 7 6 】

化合物番号1447312、1447488、及び1447549の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基3950～3983内の部分に相補的である。

【 0 2 7 7 】

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基3950～3983内の部分に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準的なインビトロアッセイにおいてCHMP7 RNAの少なくとも84%の低減を達成する。ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基3950～3983内の部分に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準的なインビトロアッセイにおいてCHMP7 RNAの平均88.7%の低減を達成する。

【 0 2 7 8 】

2. 配列番号1の核酸塩基4242~4266

ある特定の実施形態では、配列番号１の核酸塩基４２４２～４２６６は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号１の核酸塩基４２４２～４２６６内の部分に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、２０核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、ＭＯＥギャップマーである。ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドの全ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合及びホスホジエステルヌクレオシド間結合である。ある特定の実施形態では、該ホスホジエステル（「o」）及びホスホロチオエート（「s」）ヌクレオシド間結合は、５'から３'の順に、sooooo ssssssssssssoossで配置され、ここで、各「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表し、各「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合を表す。

【0279】

配列番号21、131、191、及び465の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基4242～4266内の部分に相補的である。

【0280】

化合物番号1447338、1447449、1447242、及び1447606の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基4242～4266内の部分に相補的である。

【0281】

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基4242～4266内の部分に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準的なインビトロアッセイにおいてCHMP7 RNAの少なくとも60%の低減を達成する。ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基4242～4266内の部分に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準的なインビトロアッセイにおいてCHMP7 RNAの平均68%の低減を達成する。

10

【0282】

3. 配列番号1の核酸塩基4480～4525

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基4480～4525は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基4480～4525内の部分に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、20核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、MOEギャップマーである。ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドの全ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合及びホスホジエステルヌクレオシド間結合である。ある特定の実施形態では、該ホスホジエステル（「o」）及びホスホロチオエート（「s」）ヌクレオシド間結合は、5'から3'の順に、soooooossssssssssoooooで配置され、ここで、各「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表し、各「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合を表す。

20

【0283】

配列番号34、116、184、242、257、340、及び474の核酸塩基配列は、配列番号1の4480～4525内の部分に相補的である。

30

【0284】

化合物番号1447297、1447361、1447311、1447634、1447299、1447279、及び1447636の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基4480～4525内の部分に相補的である。

【0285】

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基4480～4525内の部分に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準的なインビトロアッセイにおいてCHMP7 RNAの少なくとも41%の低減を達成する。ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基4480～4525内の部分に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準的なインビトロアッセイにおいてCHMP7 RNAの平均61%の低減を達成する。

40

【0286】

4. 配列番号1の核酸塩基4534～4566

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基4534～4566は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基4534～4566内の部分に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、20核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、MOEギャップマーである。ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドの全ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結

50

10

20

30

40

50

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基5404～5430は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基5404～5430内の部分に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴ

10

20

30

40

50

50

50

50

50

ある特定の実施形態では、配列番号 1 の核酸塩基 8 3 2 3 ~ 8 3 4 4 内の部分に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準的なインビトロアッセイにおいて CHMP7 RNA の少なくとも 8 9 % の低減を達成する。ある特定の実施形態では、配列番号 1 の核酸塩基 8 3 2 3 ~ 8 3 4 4 内の部分に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準的なインビトロアッセイにおいて CHMP7 RNA の平均 9 2 % の低減を達成する。

【0302】

8. 配列番号1の核酸塩基16927～16950

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基16927～16950は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基16927～16950内の部分に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、20核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、MOEギャップマーである。ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドの全ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合及びホスホジエステルヌクレオシド間結合である。ある特定の実施形態では、該ホスホジエステル（「o」）及びホスホロチオエート（「s」）ヌクレオシド間結合は、5'から3'の順に、soooooossssssssssssoooooで配置され、ここで、各「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表し、各「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合を表す。

10

【0303】

配列番号128、182、及び309の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基16927～16950内の部分に相補的である。

【0304】

化合物番号1447285、1447434、及び1447579の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基16927～16950内の部分に相補的である。

20

【0305】

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基16927～16950内の部分に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準的なインビトロアッセイにおいてCHMP7 RNAの少なくとも64%の低減を達成する。ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基16927～16950内の部分に相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、標準的なインビトロアッセイにおいてCHMP7 RNAの平均70.7%の低減を達成する。

【0306】

9. 配列番号1の核酸塩基17298～17340

ある特定の実施形態では、配列番号1の核酸塩基17298～17340は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1の核酸塩基17298～17340内の部分に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、20核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、MOEギャップマーである。ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドの全ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合及びホスホジエステルヌクレオシド間結合である。ある特定の実施形態では、該ホスホジエステル（「o」）及びホスホロチオエート（「s」）ヌクレオシド間結合は、5'から3'の順に、soooooossssssssssssoooooで配置され、ここで、各「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表し、各「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合を表す。

30

40

【0307】

配列番号44、76、153、206、283、363、及び416の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基17298～17340内の部分に相補的である。

【0308】

化合物番号1447397、1447283、1447435、1447433、1447416、1447587、及び1447525の核酸塩基配列は、配列番号1の核酸塩基17298～17340内の部分に相補的である。

【0309】

50

【 0 3 1 0 】

ある特定の実施形態では、配列番号１の核酸塩基１８２８７～１８３１３は、ホットスポット領域を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号１の核酸塩基１８２８７～１８３１３内の部分に相補的である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、２０核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、該ギャップマーは、MOEギャップマーである。ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドの全ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。ある特定の実施形態では、該修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合及びホスホジエステルヌクレオシド間結合である。ある特定の実施形態では、該ホスホジエステル（「o」）及びホスホロチオエート（「s」）ヌクレオシド間結合は、５'から３'の順に、sooooo ssssssssssssoossで配置され、ここで、各「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表し、各「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合を表す。

【 0 3 1 1 】

【 0 3 1 2 】

【 0 3 1 3 】

【 0 3 1 4 】

【表 1】

ホット スポット ID	開始 部位 配列 番号 1	終結 部位 配列 番号 1	最低 %低減 インビ トロ	最高 %低減 インビ トロ	平均 %低減 インビ トロ	範囲内の 化合物番号	範囲内の 配列番号
1	3950	3983	84	92	89	1447312, 1447549, 1447488	220, 302, 345
2	4242	4266	60	83	68	1447338, 1447449, 1447242, 1447606	21, 131, 191, 465
3	4480	4525	41	80	61	1447297, 1447361, 1447311, 1447634, 1447299, 1447279, 1447636	34, 116, 184, 242, 257, 340, 474
4	4534	4566	58	76	66	1447461, 1447313, 1447507, 1447343, 1447400, 1447387	55, 118, 202, 267, 372, 422
5	5205	5232	75	90	83	1447369, 1447481, 1447520, 1447304	73, 136, 197, 421
6	5404	5430	68	99	84	1447206, 1447624, 1447553, 1447604, 1447236, 1447595, 1447564	79, 160, 168, 230, 313, 331, 464
7	8323	8344	89	94	92	1447315, 1447331, 1447602	157, 186, 265
8	16927	16950	64	77	70.7	1447285, 1447434, 1447579	128, 182, 309
9	17298	17340	43	82	65	1447397, 1447283, 1447435, 1447433, 1447416, 1447587, 1447525	44, 76, 153, 206, 283, 363, 416
10	18287	18313	63	92	79	1447379, 1447535, 1447326, 1447395, 1447599	85, 121, 189, 300, 354

10

20

30

【0315】

非限定的な開示及び参照による援用

本明細書に列記される文献及び特許公開は各々、参照により全体として組み込まれる。

【0316】

本明細書に記載のある特定の化合物、組成物、及び方法は、ある特定の実施形態に従って具体的に記載されているが、以下の実施例は、本明細書に記載の化合物を説明するためにのみ役立ち、それを限定することを意図しない。本出願に列挙される参考文献、GenBankアクセッション番号等の各々は、参照により全体として本明細書に組み込まれる。

40

【0317】

本出願に添付される配列表は、必要に応じて各配列を「RNA」または「DNA」のいずれかと特定しているが、実際には、それらの配列は、化学修飾の任意の組み合わせで修飾され得る。当業者には、修飾オリゴヌクレオチドを記載するための「RNA」または「DNA」としての指定が、ある特定の例では任意であることが容易に理解されよう。例え

50

ば、2'-OH糖部分及びチミン塩基を含むヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドは、修飾糖部分（DNAの1つの2'-Hの代わりに2'-OH）を有するDNAとして、または修飾塩基（RNAのウラシルの代わりにチミン（メチル化ウラシル））を有するRNAとして記載することができる。従って、配列表中のものが挙げられるがこれらに限定されない本明細書に提供する核酸配列は、修飾核酸塩基を有するかかる核酸が挙げられるがこれらに限定されない天然または修飾RNA及び／またはDNAの任意の組み合わせを含む核酸を包含することを意図している。さらなる例として、限定することなく、核酸塩基配列「ATCGATCG」を有するオリゴマー化合物は、修飾されているかされていないかにかかわらず、これらに限定されないが、RNA塩基を含むかかる化合物、例えば、配列「AUCGAUCG」を有するものならびにいくつかのDNA塩基及びいくつかのRNA塩基、例えば、「AUCGATCG」を有するもの、ならびに「AT^mCGAUCG」（^mCは、5位にメチル基を含むシトシン塩基を示す）等の他の修飾核酸塩基を有するオリゴマー化合物を含めたかかる核酸塩基配列を有する任意のオリゴマー化合物を包含する。

10

20

30

40

50

【0318】

本明細書に記載のある特定の化合物（例えば、修飾オリゴヌクレオチド）は、1つ以上の不斉中心を有し、ひいては絶対立体化学に関して、（R）もしくは（S）として、糖アノマー等の場合にはαもしくはβとして、またはアミノ酸等の場合では（D）もしくは（L）等として定義され得るエナンチオマー、ジアステレオマー、及び他の立体異性体配置を生じる。ある特定の立体異性体配置を有するものとして描写または記載される本明細書に提供する化合物は、示される化合物のみを含む。定義されていない立体化学で描写または記載される本明細書に提供する化合物は、別途指定されない限り、それらのステレオランダム及び光学的に純粋な形態を含めたすべてのかかる可能な異性体を含む。同様に、本明細書における化合物のすべてのシスー及びトランスー異性体ならびに互変異性体もまた、別段の指示がない限り含まれる。本明細書に記載のオリゴマー化合物は、キラル純粋なまたはキラル濃縮された混合物及びラセミ混合物を含む。例えば、複数のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を有するオリゴマー化合物は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合のキラリティーが制御されたまたはランダムな化合物を含む。別段の指示がない限り、本明細書に記載の化合物は、対応する塩形態を含むことを意図している。

【0319】

本明細書に記載の化合物は、1つ以上の原子が示される元素の非放射性同位体または放射性同位体と置き換えられている変形形態を含む。例えば、水素原子を含む本明細書の化合物は、¹H水素原子の各々について、考えられるすべての重水素置換を包含する。本明細書における化合物により包含される同位体の置換としては、¹Hに代わる²Hまたは³H、¹²Cに代わる¹³Cまたは¹⁴C、¹⁴Nに代わる¹⁵N、¹⁶Oに代わる¹⁷Oまたは¹⁸O、及び³²Sに代わる³³S、³⁴S、³⁵S、または³⁶Sが挙げられるがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、非放射性同位体の置換は、治療ツールまたは研究ツールとしての使用に有益である新たな特性をオリゴマー化合物に与え得る。ある特定の実施形態では、放射性同位体の置換は、該化合物を研究目的または診断目的、例えば、画像化に適したものにし得る。

【実施例】

【0320】

以下の実施例は、本開示のある特定の実施形態を例証するものであり、限定するものではない。さらに、特定の実施形態が提供される場合、本発明者らは、それらの特定の実施形態の一般的適用を企図している。

【0321】

実施例1：5-10-5MOE混合骨格修飾オリゴヌクレオチドがインビトロ、単回投与でヒトCHMP7 RNAに与える影響

ヒトCHMP7核酸に相補的な修飾オリゴヌクレオチドを設計し、それらの単回投与がインビトロでCHMP7 RNAに与える影響を調べた。これらの修飾オリゴヌクレオチドを、同じ培養条件を有する一連の実験で試験した。

【0322】

以下の表の修飾オリゴヌクレオチドは、混合PO／PSヌクレオシド間結合の5－10－5MOEギャップマーである。これらのギャップマーは、20ヌクレオシド長であり、中央のギャップセグメントは、10個の2'－β－D－デオキシヌクレオシドからなり、5'及び3'のウイングセグメントは、各々5個の2'－MOE修飾ヌクレオシドからなる。これらのギャップマーの糖モチーフは（5'から3'へ）：e e e e e d d d d d d d d d d d e e e e eであり、ここで、「d」は、2'－β－D－デオキシリボシル糖を表し、「e」は、2'－MOE修飾糖部分を表す。これらのギャップマーのヌクレオシド間結合モチーフは（5'から3'へ）：s o o o o s s s s s s s s s s s s s s s s o o o s sであり、ここで、各「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合を表し、各「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表す。各シトシン残基は、5－メチルシトシンである。

10

【0323】

「開始部位」は、標的核酸配列において、修飾オリゴヌクレオチドが相補的である最も5'側のヌクレオシドを示す。「終結部位」は、標的核酸配列において、修飾オリゴヌクレオチドが相補的である最も3'側のヌクレオシドを示す。以下の表に記載されている各修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1（ENSEMBL Gene ID ENSG00000147457.14、ENSEMBL Release 101: August 2020）、配列番号2（GENBANKアクセッション番号NM_152272.5）、またはその両方に100%相補的である。「N/A」は、修飾オリゴヌクレオチドがその特定の標的核酸配列に100%相補的ではないことを示す。

20

【0324】

培養A431細胞を、濃度4,000nMの修飾オリゴヌクレオチドで、遊離状態での取り込み（free uptake）により、1ウェル当たり10,000細胞の密度で処理した。約48時間の処理期間の後、全RNAを細胞から単離し、CHMP7 RNAレベルを定量的リアルタイムRT-PCRによって測定した。CHMP7 RNAレベルは、ヒトプライマー・プローブセットRTS50844（順方向配列CAAGTGGACTCTTTCTAACATGC、本明細書では配列番号5として指定、逆方向配列GCGAGTTCTGATACAGACGAT、本明細書では配列番号6として指定、プローブ配列CCTCCTCAGCCTTTTCTTCAACAGC、本明細書では配列番号7として指定）によって測定した。CHMP7 RNAレベルを、RIBOGREEN（登録商標）で測定した全RNA含有量に対して正規化した。CHMP7 RNAの低減を、未処理の対照細胞の量に対するCHMP7 RNAパーセント（%UTC）として以下の表に示す。各表は、個々のアッセイプレートの結果を表す。「+」がつけられている値は、その修飾オリゴヌクレオチドが、このプライマー・プローブセットのアンプリコン領域に相補的であることを示す。追加のアッセイを使用して、アンプリコン領域に相補的な修飾オリゴヌクレオチドの効力と有効性を測定してもよい。

30

【0325】

40

50

【表 2 - 1】

表 1

A431 細胞における混合 PO/PS ヌクレオシド間結合を有する 5-10-5 MOE ギャップマーによる
CHMP7 RNA の低減

化合物 番号	配列 番号 1 開始 部位	配列 番号 1 終結 部位	配列 番号 2 開始 部位	配列 番号 2 終結 部位	配列(5'から 3')	CHMP7 (% UTC)	配列 番号
1447185	1125	1144	N/A	N/A	GGCATT TTTATATTCATGGAC	88	10
1447189	16656	16675	1917	1936	AGGACAGTTTCTCAAGTTCA	76	11
1447190	10035	10054	N/A	N/A	ATGTGATGCTATTAATAGGA	24	12
1447191	8219	8238	N/A	N/A	AGTACATAGATCTCTGCACA	49	13
1447202	15172	15191	1685	1704	TTGGATCTGATCCACGAGGC	88	14
1447203	4818	4837	N/A	N/A	AAAGCTGTTAACTATTAGGT	52	15
1447204	56	75	56	75	GACGAGTATACTCAAAGTCA	112	16
1447214	18276	18295	3323	3342	CCCCAACATTTCCGTTTAC	123	17
1447223	1306	1325	N/A	N/A	GTCAATTC CATATACCTAT	108	18
1447230	6665	6684	N/A	N/A	AAGGACACTACACTCTGAGC	122	19
1447239	10330	10349	N/A	N/A	ATGATGATCCTTTATTCTGT	38	20
1447242	4246	4265	N/A	N/A	ATCAGAGTTGACTTTCTCCT	40	21
1447244	16319	16338	N/A	N/A	TCTTCCACACTCCAAGCTAA	94	22
1447245	16988	17007	2035	2054	AAGCCTGGTCTCTCTTTTAC	91	23
1447247	17119	17138	2166	2185	GCATCGCTTCCAGAAATTCT	66	24
1447262	12519	12538	N/A	N/A	TGGTCCAGAACTTTACCTT	126	25
1447264	3703	3722	N/A	N/A	CTCTTAGACCTTCTGCTCCA	46	26
1447266	5854	5873	N/A	N/A	AACTCAGTTATCAACTCAGT	89	27
1447276	5605	5624	979	998	CTGCTGTCTACACTGGCCAT	82	28
1447277	17074	17093	2121	2140	TCCAGATAAAATCAGTGGTT	138	29
1447288	1533	1552	N/A	N/A	TGCTCACACCATTTCCTAGTC	110	30
1447289	11791	11810	N/A	N/A	ATGAGCCTCCATACCTTCTC	84	31
1447296	8108	8127	N/A	N/A	TATCGATAGATTATCATGCA	57	32
1447310	18096	18115	3143	3162	TCGCTTCTTCTCGCCATTGC	67	33
1447311	4485	4504	N/A	N/A	ACTGTATGCCATCTCAGAAA	53	34
1447314	5451	5470	N/A	N/A	TCACGACCATTGTAAAGCA	11	35
1447336	1695	1714	N/A	N/A	TCCAAACACCAGCTCATGATA	173	36
1447340	17545	17564	2592	2611	CGACCTCTTCTCTGAACAC	60	37
1447363	4602	4621	N/A	N/A	GGAAGATGATCCACTTCCAA	137	38
1447368	16311	16330	N/A	N/A	ACTCCAAGCTAAGTCACCAA	78	39
1447371	3900	3919	N/A	N/A	ACAGACCTTTTAAGGGCACT	25	40

【 0 3 2 6 】

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

1447381	16733	16752	N/A	N/A	GCCCATCAACTCTGTCAGCC	99	41
1447383	10652	10671	N/A	N/A	CCATTTTCGCTCATACATGGA	151	42
1447392	16951	16970	1998	2017	GAGGGTCCTACAATGGCTTT	100	43
1447397	17298	17317	2345	2364	CTGCAAATCTTTCCCCTTCA	29	44
1447405	9530	9549	N/A	N/A	AAGTCCTCAGCATATCCACA	47	45
1447411	7531	7550	N/A	N/A	TGTTTGCCAGTACAAACCTC	117	46
1447413	16415	16434	N/A	N/A	ACCAAAACCCGCTTAGCTTT	93	47
1447424	683	702	N/A	N/A	GTACAGATCTTACACCATTTC	118	48
1447430	9034	9053	N/A	N/A	CCTGAAATTCAATAGCCATA	70	49
1447436	5732	5751	N/A	N/A	ACCCACCTTCAACAGCTCCA	71†	50
1447439	9291	9310	N/A	N/A	CATCGAGTTTTTCATTGATTT	110	51
1447441	13019	13038	N/A	N/A	AAGCCACATATACTAACAT	130	52
1447450	5814	5833	N/A	N/A	GGTCTTTTTTCAAGAACGCA	52	53
1447458	14167	14186	N/A	N/A	AGGATAAGCTTTTCAACCC	74	54
1447461	4534	4553	N/A	N/A	CTACTGTTTCTCCTGTTCCC	41	55
1447463	16526	16545	1787	1806	GATGTCCAATTCCTTCTCCA	51	56
1447466	8001	8020	N/A	N/A	GGTGCACACCAATTCCATTT	93	57
1447475	15482	15501	N/A	N/A	TGTCCACTCACCTAAGCCAT	160	58
1447476	5109	5128	N/A	N/A	CTTCTTGCTCTTCCAAGGCA	74	59
1447478	2094	2113	N/A	N/A	CCAGATGGTTTCATTGATA	140	60
1447485	4052	4071	N/A	N/A	GAGGATAATTCTATCACCTC	95	61
1447490	18205	18224	3252	3271	TGGAGCAAATTCTTCTCCTC	87	62
1447493	14124	14143	N/A	N/A	GGCACATTATACACATCTTC	57	63
1447495	14967	14986	N/A	N/A	GCTCAATTTACCTATACCC	58	64
1447497	11435	11454	N/A	N/A	GATCTGTGTTTTTAAGCCTT	11	65
1447502	5691	5710	1065	1084	CTGGAACCTTATTATCTCCC	15†	66
1447509	16327	16346	N/A	N/A	GAGATGATTCTTCCACACTC	44	67
1447510	11845	11864	N/A	N/A	GGGCTCACTACTCTATGTAC	163	68
1447512	12548	12567	N/A	N/A	TCAGCAAATGATATTTGGTC	66	69
1447514	11830	11849	N/A	N/A	TGTACTTAATCAATCACTGC	91	70
1447516	2031	2050	N/A	N/A	CCATCTCTTTTATAAGATAG	117	71
1447517	9241	9260	N/A	N/A	GTAAGTGCACAGTAACCACA	59	72
1447520	5212	5231	N/A	N/A	GGTGAGATCTCCTTTTACAA	25	73
1447523	14029	14048	N/A	N/A	CTAGACTTTCCACCTGGAA	58	74
1447524	18068	18087	3115	3134	TCAGACCCTTTCCCGTCTGT	80	75
1447525	17321	17340	2368	2387	GAACTGATTTCAGATTTGGCA	35	76
1447540	11248	11267	N/A	N/A	CTGAGGCCTGATTTCCAGCC	105	77
1447544	16269	16288	N/A	N/A	ATGGACCTGACCCTGATTCC	62	78

【 0 3 2 7 】

10

20

30

40

50

【表 2 - 3】

1447553	5406	5425	N/A	N/A	CATTGTTTATACTCCAGCTC	32	79
1447570	4548	4567	N/A	N/A	ACTGACTTCTTCAACTACTG	65	80
1447571	12898	12917	1380	1399	GAAGCTGTTCACTCTGCATC	77	81
1447572	748	767	N/A	N/A	AGTCTTTTCAACAATGAGCA	81	82
1447581	11152	11171	N/A	N/A	CATCTAATTCCCTTCCAATT	70	83
1447598	11195	11214	N/A	N/A	ACTAGTCCTCAGTATCACTC	59	84
1447599	18294	18313	3341	3360	AGTGATTGTTTCTCTTCACC	37	85
1447623	925	944	N/A	N/A	ACGGATACAACCCAACCTTCA	75	86
1447632	12820	12839	N/A	N/A	GGGCAAACCTTCACAATCTGA	88	87

10

20

30

40

50

【 0 3 2 8 】

【表 3 - 1】

表 2

A431 細胞における混合 PO/PS スクレオシド間結合を有する 5-10-5 MOE ギャップマーによる
CHMP7 RNA の低減

化合物 番号	配列 番号 1 開始 部位	配列 番号 1 終結 部位	配列 番号 2 開始 部位	配列 番号 2 終結 部位	配列(5'から 3')	CHMP7 (% UTC)	配列 番号
1447199	11193	11212	N/A	N/A	TAGTCCTCAGTATCACTCTC	53	88
1447201	1299	1318	N/A	N/A	CCCATATACCTATAATGATC	136	89
1447209	52	71	52	71	AGTATACTCAAAGTCAGGCA	82	90
1447211	16250	16269	N/A	N/A	CCACTGCCCTTGAAGGAGGA	121	91
1447229	14166	14185	N/A	N/A	GGATAAGCTTTTTCAACCCA	43	92
1447240	12897	12916	1379	1398	AAGCTGTTCACCTCTGCATCA	119	93
1447241	17116	17135	2163	2182	TCGCTTCCAGAAATTCTATC	49	94
1447243	16287	16306	N/A	N/A	GTGTATTCTGTTAACACCAT	63	95
1447252	11338	11357	N/A	N/A	GGGATTTTACACTCCTGCCT	44	96
1447257	5813	5832	N/A	N/A	GTCTTTTTCAAGAACGCAC	30	97
1447259	4051	4070	N/A	N/A	AGGATAATTCTATCACCTCA	35	98
1447260	5724	5743	1098	1117	TCAACAGCTCCACAGCGACA	25†	99
1447261	670	689	N/A	N/A	ACCATTTCACAAAAGCCAGCT	155	100
1447267	10329	10348	N/A	N/A	TGATGATCCTTTATTCTGTA	34	101
1447271	9612	9631	N/A	N/A	TCCAAGATTATGTATACAAC	41	102
1447306	11844	11863	N/A	N/A	GGCTCACTACTCTATGTACT	68	103
1447309	3617	3636	N/A	N/A	ACTGTCACCTCTGTTAGGCT	15	104
1447317	16317	16336	N/A	N/A	TTCCACACTCCAAGCTAAGT	87	105
1447319	16653	16672	1914	1933	ACAGTTTCTCAAGTTCAGCT	46	106
1447322	2093	2112	N/A	N/A	CAGATGGTTTCATTTGATAA	143	107
1447325	7528	7547	N/A	N/A	TTGCCAGTACAAACCTCATC	38	108
1447327	810	829	N/A	N/A	GGCACATGTAAATACAGTCA	157	109
1447329	15470	15489	1748	1767	TAAGCCATTTGTTACCCAC	41	110
1447334	1993	2012	N/A	N/A	CCAAGTATCCTATGAGGCA	90	111
1447335	16402	16421	N/A	N/A	TAGCTTTACAAAAGATGCCA	89	112
1447349	747	766	N/A	N/A	GTCTTTTCAACAATGAGCAC	61	113
1447351	9521	9540	N/A	N/A	GCATATCCACAGCAAAAGATC	47	114
1447360	17930	17949	2977	2996	CCTGCTTCTATTGCACATCC	74	115
1447361	4482	4501	N/A	N/A	GTATGCCATCTCAGAAAGCC	29	116
1447376	12518	12537	N/A	N/A	GGTCCAGAACTTTTACCTTT	87	117
1447387	4547	4566	N/A	N/A	CTGACTTCTTCAACTACTGT	38	118

【 0 3 2 9 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 2】

1447390	17543	17562	2590	2609	ACCTCTTCTCTGAACACCT	42	119
1447394	11242	11261	N/A	N/A	CCTGATTTCAGCCTAGCCT	70	120
1447395	18292	18311	3339	3358	TGATTGTTTCTCTCACCCC	25	121
1447404	4599	4618	N/A	N/A	AGATGATCCACTTCCAATAC	90	122
1447407	18078	18097	3125	3144	GCCAGAGCATTCAAGCCCTT	44	123
1447412	8000	8019	N/A	N/A	GTGCACACCAATTCCATTTC	128	124
1447423	12814	12833	N/A	N/A	ACTTCACAATCTGAGGGACA	130	125
1447431	4774	4793	N/A	N/A	TGACACTGCTTTTAATACTA	7	126
1447432	18204	18223	3251	3270	GGAGCAAATTCTTCTCCTCT	70	127
1447434	16931	16950	1978	1997	AGAGTCGGTTCCAATTGCCT	29	128
1447444	11729	11748	1238	1257	CTGCAGCAACACCAAGTAGA	116	129
1447448	4533	4552	N/A	N/A	TACTGTTTCTCCTGTTCCCT	51	130
1447449	4243	4262	N/A	N/A	AGAGTTGACTTTCTCCTTCC	17	131
1447460	17045	17064	2092	2111	CCTCTTCCAAACACATTCTG	96	132
1447462	11113	11132	N/A	N/A	GCCAATTGGCTATACTGCAA	71	133
1447471	8105	8124	N/A	N/A	CGATAGATTATCATGCAGGC	9	134
1447472	1694	1713	N/A	N/A	CCAACACCAGCTCATGATAA	62	135
1447481	5207	5226	N/A	N/A	GATCTCCTTTTACAATTGGT	10	136
1447491	9236	9255	N/A	N/A	TGCACAGTAACCACACACAA	89	137
1447500	16984	17003	2031	2050	CTGGTCTCTCTTTACATGA	48	138
1447501	5853	5872	N/A	N/A	ACTCAGTTATCAACTCAGTA	112	139
1447503	18274	18293	3321	3340	CCCAACATTTCCGTTTACCA	66	140
1447511	5588	5607	962	981	CATGAAGTCTGACTCCCCT	132	141
1447518	16524	16543	1785	1804	TGTCCAATTCTCTTCTCCAGT	83	142
1447522	5108	5127	N/A	N/A	TTCTTGCTCTTCCAAGGCAA	91	143
1447526	16708	16727	N/A	N/A	GCCATATGCCCTCCAAAGGC	133	144
1447527	11829	11848	N/A	N/A	GTACTTAATCAATCACTGCT	71	145
1447528	14123	14142	N/A	N/A	GCACATTATACACATCTTCC	35	146
1447531	1509	1528	N/A	N/A	CTGTACGGGAAATCCTAGCT	100	147
1447532	12547	12566	N/A	N/A	CAGCAAATGATATTTGGTCT	23	148
1447537	1058	1077	N/A	N/A	GTAGATCCAGTGAAATCCCA	59	149
1447542	5425	5444	N/A	N/A	CTGTGCCAACGACACGCAGC	91	150
1447574	13017	13036	N/A	N/A	GCCCACATATACTAACATTT	102	151
1447575	15136	15155	1649	1668	TGTGACATCCTTCATGGAGA	82	152
1447587	17320	17339	2367	2386	AACTGATTCAAGATTGGCAA	47	153
1447593	9283	9302	N/A	N/A	TTTCATTGATTGACTGCCC	52	154
1447596	6664	6683	N/A	N/A	AGGACACTACACTCTGAGCA	51	155
1447600	10592	10611	N/A	N/A	ATGCTATGAAAATATAGGGA	56	156

【 0 3 3 0 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 3】

1447602	8325	8344	N/A	N/A	GTGCAACTTATTACAAACTT	11	157
1447603	14008	14027	N/A	N/A	ACAGACTTCAATGTCTGTGT	56	158
1447619	14855	14874	N/A	N/A	TGCAAGTGACCAACACACAC	104	159
1447624	5405	5424	N/A	N/A	ATTGTTTATACTCCAGCTCT	18	160
1447626	17293	17312	2340	2359	AATCTTTCCCCTTCATGGGC	69	161
1447635	8218	8237	N/A	N/A	GTACATAGATCTCTGCACAA	52	162
1447643	16326	16345	N/A	N/A	AGATGATTCTTCCACACTCC	60	163
1447646	3781	3800	N/A	N/A	TGGCAAGATGCCTACAGGCC	81	164
1447647	5690	5709	1064	1083	TGGAACCTTATTATCTCCCA	27†	165

10

【 0 3 3 1 】

20

30

40

50

【表 4 - 1】

表 3

A431 細胞における混合 PO/PS ヌクレオシド間結合を有する 5-10-5 MOE ギャップマーによる
CHMP7 RNA の低減

化合物 番号	配列 番号 1 開始 部位	配列 番号 1 終結 部位	配列 番号 2 開始 部位	配列 番号 2 終結 部位	配列(5'から 3')	CHMP7 (% UTC)	配列 番号
1447193	2048	2067	N/A	N/A	GTTGTACCAGTTCTGTGCCA	78	166
1447197	10327	10346	N/A	N/A	ATGATCCTTTATTCTGTAGA	37	167
1447206	5404	5423	N/A	N/A	TTGTTTATACTCCAGCTCTA	29	168
1447208	15115	15134	1628	1647	TTTGAGTGCTCCTACCCCAG	64	169
1447210	11190	11209	N/A	N/A	TCCTCAGTATCACTCTCTGA	62	170
1447212	11205	11224	N/A	N/A	TCACAGCCTCACTAGTCCTC	86	171
1447216	11617	11636	1126	1145	AGACGATACACCTCCTCAGC	59†	172
1447217	16316	16335	N/A	N/A	TCCACACTCCAAGCTAAGTC	51	173
1447222	1822	1841	N/A	N/A	AAGCGGAATTTATTACAGCT	75	174
1447226	16249	16268	N/A	N/A	CACTGCCCTTGAAGGAGGAT	67	175
1447227	13010	13029	N/A	N/A	TATACTAACATTTTGCTGGC	97	176
1447233	9611	9630	N/A	N/A	CCAAGATTATGTATACAACC	20	177
1447234	809	828	N/A	N/A	GCACATGTAAATACAGTCAA	61	178
1447273	13975	13994	N/A	N/A	GGTGTGTCTTTATTAGGGAT	16	179
1447274	9282	9301	N/A	N/A	TTCATTGATTTGACTGCCCT	52	180
1447280	5993	6012	N/A	N/A	GCTGCTTAACATTAATCCCT	41	181
1447285	16930	16949	1977	1996	GAGTCGGTTCCAATTGCCTT	23	182
1447292	17008	17027	2055	2074	TAACTATGTACACACCCAGC	43	183
1447297	4480	4499	N/A	N/A	ATGCCATCTCAGAAAGCCTC	31	184
1447303	15469	15488	1747	1766	AAGCCATTTGTTACCCACC	43	185
1447315	8324	8343	N/A	N/A	TGCAACTTATTACAAACTTT	7	186
1447316	16624	16643	1885	1904	GCATCTGAGATCCTAGGGTT	54	187
1447324	16692	16711	N/A	N/A	AGGCCTTGAAAACAGCTCC	83	188
1447326	18291	18310	3338	3357	GATTGTTTCTCTTACCCCC	8	189
1447337	669	688	N/A	N/A	CCATTCACAAAAGCCAGCTC	93	190
1447338	4242	4261	N/A	N/A	GAGTTGACTTTCTCCTTCCC	37	191
1447341	12792	12811	N/A	N/A	GAGAAATTACTACTGCTGCT	90	192
1447346	16385	16404	N/A	N/A	CCAGGCCTCCTTGCAGATTA	148	193
1447348	11337	11356	N/A	N/A	GGATTTTACACTCCTGCCTC	95	194
1447355	16325	16344	N/A	N/A	GATGATTCTTCCACACTCCA	35	195
1447362	4554	4573	N/A	N/A	TCCCTCACTGACTTCTTCAA	48	196

【 0 3 3 2】

10

20

30

40

50

【表 4 - 2】

1447369	5205	5224	N/A	N/A	TCTCCTTTTACAATTGGTGC	19	197
1447372	5516	5535	N/A	N/A	ATGCAATGTCCCATTCCAGT	83	198
1447389	16284	16303	N/A	N/A	TATTCTGTAAACACCATGGA	47	199
1447393	12482	12501	N/A	N/A	CTTGACCGCTTCTCTTTGGT	81	200
1447396	1651	1670	N/A	N/A	GAGGGACACATCCTCCACTT	75	201
1447400	4546	4565	N/A	N/A	TGACTTCTTCAACTACTGTT	42	202
1447403	16980	16999	2027	2046	TCTCTCTTTTACATGAGGGT	66	203
1447408	1054	1073	N/A	N/A	ATCCAGTGAAATCCCAGTGA	76	204
1447415	8075	8094	N/A	N/A	ATCGAGTAAATCCATACTGT	46	205
1447416	17304	17323	2351	2370	GCAAAGCTGCAAATCTTTCC	57	206
1447419	4730	4749	N/A	N/A	GAGAAGTATCATCCTCAGAA	45	207
1447421	18269	18288	3316	3335	CATTTCCGTTTACCAAGGTC	22	208
1447422	688	707	N/A	N/A	TCCAGGTACAGATCTTACAC	87	209
1447442	11795	11814	N/A	N/A	ACAGATGAGCCTCCATACCT	76	210
1447453	7944	7963	N/A	N/A	CGTGTGTATTCACTCACTCA	94	211
1447455	4955	4974	N/A	N/A	ACCTAGGTACAATTATCATC	63	212
1447459	1503	1522	N/A	N/A	GGGAAATCCTAGCTAACACA	70	213
1447464	12535	12554	N/A	N/A	TTTGGTCTTCCTTATTTGGT	53	214
1447465	14084	14103	N/A	N/A	AGGAACTGTTAACACCAACA	47	215
1447469	17494	17513	2541	2560	AAACCTTTTATACTACATGT	65	216
1447470	7527	7546	N/A	N/A	TGCCAGTACAAACCTCATCT	32	217
1447482	11108	11127	N/A	N/A	TTGGCTATACTGCAAACACA	47	218
1447487	18197	18216	3244	3263	ATTCTTCTCCTCTGCTCTAC	64	219
1447488	3964	3983	N/A	N/A	GTATTAGTTATCAATGTTAC	8	220
1447498	2212	2231	N/A	N/A	CACATTTCTTGAAAGCACAC	78	221
1447513	11843	11862	N/A	N/A	GCTCACTACTCTATGTACTT	53	222
1447529	5718	5737	1092	1111	GCTCCACAGCGACAAAGGACC	10†	223
1447547	9151	9170	N/A	N/A	ATAGAGCTTTCCCCACCACA	54	224
1447550	14850	14869	N/A	N/A	GTGACCAACACACACGGAGA	57	225
1447554	9383	9402	N/A	N/A	CGTCATGTAAACAAATTCAA	47	226
1447555	5688	5707	1062	1081	GAACCTTATTATCTCCCAGC	4†	227
1447556	16511	16530	1772	1791	CTCCAGTTCTTCACTGTCAA	60	228
1447560	5849	5868	N/A	N/A	AGTTATCAACTCAGTAGCCA	20	229
1447564	5411	5430	N/A	N/A	CGCAGCATTGTTTATACTCC	26	230
1447576	17743	17762	2790	2809	AAACAATTTGCCTCTTTGCA	73	231
1447588	36	55	36	55	GGCAAGCAAGTTTATTGACC	63	232
1447591	5812	5831	N/A	N/A	TCTTTTTTCAAGAACGCACA	70	233
1447592	12889	12908	1371	1390	CACTCTGCATCAGCTGGTAC	104	234

10

20

30

40

【 0 3 3 3 】

50

【表 4 - 3】

1447601	10343	10362	N/A	N/A	AGTGTAATATCTTATGATGA	59	235
1447607	17292	17311	2339	2358	ATCTTTCCCTTCATGGGCT	59	236
1447608	14165	14184	N/A	N/A	GATAAGCTTTTCAACCCAC	50	237
1447612	18077	18096	3124	3143	CCAGAGCATTTCAGACCCTTT	48	238
1447614	1218	1237	N/A	N/A	GGTATAAATCTAACACGGTA	83	239
1447616	8152	8171	N/A	N/A	TTGAAATGTCCATCTGCGGA	41	240
1447629	3743	3762	N/A	N/A	GCTTTTATAGCTCTAACCTTC	29	241
1447636	4506	4525	N/A	N/A	GCATGAACGAAAACGGTTTC	48	242
1447638	17111	17130	2158	2177	TCCAGAAATTCTATCTGTCC	59	243

10

【 0 3 3 4 】

20

30

40

50

【表 5 - 1】

表 4

A431 細胞における混合 PO/PS スクレオシド間結合を有する 5-10-5 MOE ギャップマーによる
CHMP7 RNA の低減

化合物 番号	配列 番号 1 開始 部位	配列 番号 1 終結 部位	配列 番号 2 開始 部位	配列 番号 2 終結 部位	配列(5'から 3')	CHMP7 (% UTC)	配列 番号
1447188	12534	12553	N/A	N/A	TTGGTCTTCCTTATTTGGTC	35	244
1447205	659	678	N/A	N/A	AAGCCAGCTCAAATGGATCA	97	245
1447213	10276	10295	N/A	N/A	GCTAGATTAACAGAAAGCTA	66	246
1447218	5687	5706	1061	1080	AACCTTATTATCTCCCAGCA	8†	247
1447228	4363	4382	N/A	N/A	GCAATATCAATGTCCAGTCC	14	248
1447231	18194	18213	3241	3260	CTTCTCCTCTGCTCTACGCC	50	249
1447238	9610	9629	N/A	N/A	CAAGATTATGTATACAACCT	49	250
1447249	11335	11354	N/A	N/A	ATTTTACACTCCTGCCTCTC	64	251
1447251	18075	18094	3122	3141	AGAGCATTCAGACCCTTTCC	34	252
1447255	11794	11813	N/A	N/A	CAGATGAGCCTCCATACCTT	106	253
1447256	5379	5398	N/A	N/A	CACAACACTTCTGCATGGGA	5	254
1447265	1203	1222	N/A	N/A	CGGTATGTACAAATTCTACA	98	255
1447270	17548	17567	2595	2614	GGGCGACCTCTTTCTCTGAA	59	256
1447279	4498	4517	N/A	N/A	GAAAACGGTTTCCACTGTAT	20	257
1447281	16979	16998	2026	2045	CTCTCTTTTACATGAGGGTC	75	258
1447286	18232	18251	3279	3298	ATTGAACAACGATTTGTGCT	36	259
1447287	9281	9300	N/A	N/A	TCATTGATTTGACTGCCCTA	24	260
1447290	17222	17241	2269	2288	CTGCAGGCTATGAAATGACA	67	261
1447291	5515	5534	N/A	N/A	TGCAATGTCCCATTCCAGTC	46	262
1447294	11839	11858	N/A	N/A	ACTACTCTATGTACTTAATC	79	263
1447323	5777	5796	N/A	N/A	ATGCTGTGATCACACCAGGT	50	264
1447331	8323	8342	N/A	N/A	GCAACTTATTACAAACTTTT	6	265
1447342	14057	14076	N/A	N/A	CGGACATATCCTCTGCCCTCC	93	266
1447343	4545	4564	N/A	N/A	GACTTCTTCAACTACTGTTT	24	267
1447344	12481	12500	N/A	N/A	TTGACCGCTTCTCTTGGTA	111	268
1447345	1494	1513	N/A	N/A	TAGCTAACACAGTTAGCCAA	113	269
1447356	1649	1668	N/A	N/A	GGGACACATCCTCCACTTGA	112	270
1447359	14973	14992	N/A	N/A	ACCCAAGCTCAATTTACCCT	86	271
1447364	10340	10359	N/A	N/A	GTAATATCTTATGATGATCC	17	272
1447366	16568	16587	1829	1848	GTCAGGCAGATCCAAAGGTT	63	273
1447370	4725	4744	N/A	N/A	GTATCATCCTCAGAAATTCT	18	274

【 0 3 3 5 】

10

20

30

40

50

【表 5 - 2】

1447373	12597	12616	N/A	N/A	CACAATTTTTCCTATAGAAG	84	275
1447382	12880	12899	1362	1381	TCAGCTGGTACACCCCAACA	104	276
1447384	10658	10677	N/A	N/A	ATGTCACCATTTCGCTCATA	29	277
1447388	1821	1840	N/A	N/A	AGCGGAATTTATTACAGCTA	107	278
1447391	16510	16529	1771	1790	TCCAGTTCTTCACTGTCAAA	69	279
1447410	9358	9377	N/A	N/A	TTGGACATTTCAAGAAGTGA	57	280
1447425	5818	5837	N/A	N/A	AGACGGTCTTTTTTCAAGAA	34	281
1447427	16324	16343	N/A	N/A	ATGATTCTTCCACACTCCAA	41	282
1447433	17302	17321	2349	2368	AAAGCTGCAAATCTTTCCCC	18	283
1447438	8129	8148	N/A	N/A	CCTGTTGCATAAATTGTGGC	64	284
1447440	7500	7519	N/A	N/A	TCCATGGGTTTACCTCTCCT	45	285
1447445	797	816	N/A	N/A	ACAGTCAACTGACCTTTCGA	68	286
1447446	13961	13980	N/A	N/A	AGGGATTCTTGTACAGTCA	45	287
1447447	35	54	35	54	GCAAGCAAGTTTATTGACCT	56	288
1447451	15465	15484	1743	1762	CATTTGTTACCCACCAGCC	59	289
1447452	1044	1063	N/A	N/A	ATCCCAAGTAAAATCATGGC	61	290
1447473	2036	2055	N/A	N/A	CTGTGCCATCTCTTTTATAA	107	291
1447479	11603	11622	N/A	N/A	CTCAGCCTTTTCCTGTGGGA	83†	292
1447483	5990	6009	N/A	N/A	GCTTAACATTAATCCCTACA	30	293
1447486	687	706	N/A	N/A	CCAGGTACAGATCTTACACC	83	294
1447496	8040	8059	N/A	N/A	AGGCACCTGATACAATGCAA	33	295
1447499	4954	4973	N/A	N/A	CCTAGGTACAATTATCATCA	84	296
1447508	11200	11219	N/A	N/A	GCCTCACTAGTCCTCAGTAT	122	297
1447515	13009	13028	N/A	N/A	ATACTAACATTTTGCTGGCT	76	298
1447533	4553	4572	N/A	N/A	CCCTCACTGACTTCTTCAAC	73	299
1447535	18288	18307	3335	3354	TGTTTCTCTTCACCCCCAAC	19	300
1447548	2198	2217	N/A	N/A	GCACACTCTGCCAAAACACA	133	301
1447549	3961	3980	N/A	N/A	TTAGTTATCAATGTTACCCT	10	302
1447551	3720	3739	N/A	N/A	AGGTTAATGAATCCTATCTC	58	303
1447562	9150	9169	N/A	N/A	TAGAGCTTTCCCCACCACAT	53	304
1447563	4136	4155	N/A	N/A	GTCCCGGTATCACCTTTAAC	53	305
1447565	16315	16334	N/A	N/A	CCACACTCCAAGCTAAGTCA	50	306
1447567	16330	16349	N/A	N/A	GCAGAGATGATTCTTCCACA	11	307
1447578	16068	16087	N/A	N/A	TGTCAAATCATCACAGCAC	65	308
1447579	16927	16946	1974	1993	TCGGTTCCAATTGCCTTTTT	36	309
1447584	17493	17512	2540	2559	AACCTTTTATACTACATGTT	52	310
1447586	7914	7933	N/A	N/A	ATTGACTGTCTACCAGGTAT	34	311
1447594	17007	17026	2054	2073	AACTATGTACACACCCAGCA	31	312

【 0 3 3 6 】

10

20

30

40

50

【表 5 - 3】

1447595	5409	5428	N/A	N/A	CAGCATTGTTTATACTCCAG	1	313
1447610	11189	11208	N/A	N/A	CCTCAGTATCACTCTCTGAA	100	314
1447622	14760	14779	1555	1574	AGGATGCCTTGAACAGTGTC	86	315
1447630	14164	14183	N/A	N/A	ATAAGCTTTTTCAACCCACA	51	316
1447639	5694	5713	1068	1087	CAGCTGGAACCTTATTATCT	74†	317
1447642	16686	16705	N/A	N/A	TGGAAAACAGCTCCATACCT	76	318
1447645	17110	17129	2157	2176	CCAGAAATTCTATCTGTCCT	56	319
1447648	5115	5134	N/A	N/A	GAAGGACTTCTTGCTCTTCC	49	320
1447650	16283	16302	N/A	N/A	ATTCTGTTAACACCATGGAC	109	321

10

20

30

40

50

【 0 3 3 7 】

【表 6 - 1】

表 5

A431 細胞における混合 PO/PS スクレオシド間結合を有する 5-10-5 MOE ギャップマーによる
CHMP7 RNA の低減

化合物 番号	配列 番号 1 開始 部位	配列 番号 1 終結 部位	配列 番号 2 開始 部位	配列 番号 2 終結 部位	配列(5'から 3')	CHMP7 (% UTC)	配列 番号
1447186	12533	12552	N/A	N/A	TGGTCTTCCTTATTTGGTCC	38	322
1447194	16529	16548	1790	1809	GAGGATGTCCAATTCCTTCT	80	323
1447195	11334	11353	N/A	N/A	TTTTACACTCCTGCCTCTCA	65	324
1447198	5514	5533	N/A	N/A	GCAATGTCCCATTCAGTCT	46	325
1447207	4362	4381	N/A	N/A	CAATATCAATGTCCAGTCCA	57	326
1447215	5735	5754	N/A	N/A	AGTACCCACCTTCAACAGCT	81†	327
1447220	12879	12898	1361	1380	CAGCTGGTACACCCCAACAT	100	328
1447224	5297	5316	N/A	N/A	GCCAAATTTACACCATGATA	9	329
1447235	13008	13027	N/A	N/A	TACTAACATTTGCTGGCTC	57	330
1447236	5408	5427	N/A	N/A	AGCATTGTTTATACTCCAGC	2	331
1447246	16329	16348	N/A	N/A	CAGAGATGATTCCTCCACAC	44	332
1447248	10656	10675	N/A	N/A	GTCACCATTCGCTCATACA	19	333
1447253	16963	16982	2010	2029	GGTCCTTCACTTGAGGGTCC	98	334
1447258	18231	18250	3278	3297	TTGAACAACGATTGTGCTC	40	335
1447263	17547	17566	2594	2613	GGCGACCTCTTCTCTGAAC	44	336
1447268	5686	5705	1060	1079	ACCTTATTATCTCCCAGCAT	12†	337
1447284	2034	2053	N/A	N/A	GTGCCATCTCTTTATAAGA	111	338
1447295	1414	1433	N/A	N/A	GAAGACATAATTATCCATGC	74	339
1447299	4496	4515	N/A	N/A	AAACGGTTTCCACTGTATGC	59	340
1447300	12480	12499	N/A	N/A	TGACCGCTTCTCTTTGGTAA	71	341
1447305	18074	18093	3121	3140	GAGCATTCAGACCTTTCCC	44	342
1447307	16282	16301	N/A	N/A	TTCTGTTAACACCATGGACC	71	343
1447308	17003	17022	2050	2069	ATGTACACACCCAGCAAGCC	59	344
1447312	3950	3969	N/A	N/A	TGTTACCCTCAGATACCGCC	16	345
1447330	16314	16333	N/A	N/A	CACACTCCAAGCTAAGTCAC	73	346
1447339	8005	8024	N/A	N/A	GCAGGGTGCACACCAATTCC	109	347
1447347	4129	4148	N/A	N/A	TATCACCTTTAACTAGCTGT	24	348
1447353	16503	16522	N/A	N/A	CTTCACTGTCAAAATCTGGA	92	349
1447354	10213	10232	N/A	N/A	GCAAGGAGACCATTACACA	47	350
1447358	16322	16341	N/A	N/A	GATTCTTCCACACTCCAAGC	59	351
1447365	12589	12608	N/A	N/A	TTCTATAGAAGATTCATTC	77	352

【 0 3 3 8 】

10

20

30

40

50

【表 6 - 2】

1447375	9299	9318	N/A	N/A	GACACAGACATCGAGTTTTTC	52	353
1447379	18287	18306	3334	3353	GTTTCTCTTCACCCCCAACA	16	354
1447386	17080	17099	2127	2146	GTAGCATCCAGATAAAATCA	38	355
1447398	11793	11812	N/A	N/A	AGATGAGCCTCCATACCTTC	106	356
1447399	15489	15508	N/A	N/A	ACCACCTTGTCCTCACCT	62	357
1447417	4552	4571	N/A	N/A	CCTCACTGACTTCTTCAACT	64	358
1447420	11836	11855	N/A	N/A	ACTCTATGTACTTAATCAAT	108	359
1447426	10335	10354	N/A	N/A	ATCTTATGATGATCCTTTAT	58	360
1447428	11199	11218	N/A	N/A	CCTCACTAGTCCTCAGTATC	62	361
1447429	14432	14451	N/A	N/A	ACTCACCAGCTGCTTCTTTC	154	362
1447435	17300	17319	2347	2366	AGCTGCAAATCTTTCCCCTT	33	363
1447454	14160	14179	N/A	N/A	GCTTTTTCAACCCACAGGGA	110	364
1447467	7864	7883	N/A	N/A	TGGCACTGTTCCTTCTAGT	24	365
1447468	1043	1062	N/A	N/A	TCCCAGTGAAAATCATGGCT	72	366
1447477	17206	17225	2253	2272	GACAGGTCAGACACAGGACT	19	367
1447484	14969	14988	N/A	N/A	AAGCTCAATTTACCTATAC	80	368
1447489	5817	5836	N/A	N/A	GACGGTCTTTTTTCAAGAAC	77	369
1447504	294	313	N/A	N/A	ACCAAAGAAGATCTACCAAC	91	370
1447505	11516	11535	N/A	N/A	AAACCATGATCACACAAGGC	54	371
1447507	4541	4560	N/A	N/A	TCTTCAACTACTGTTTCTCC	27	372
1447519	1539	1558	N/A	N/A	AATGTCTGCTCACACCATTC	107	373
1447521	2168	2187	N/A	N/A	CAGACCACTGAATATGTTT	85	374
1447530	1820	1839	N/A	N/A	GCGGAATTTATTACAGCTAG	122	375
1447534	14035	14054	N/A	N/A	ACAAGGCTAGACTTTCCCAC	61	376
1447536	7499	7518	N/A	N/A	CCATGGGTTTACCTCTCCTC	62	377
1447541	11164	11183	N/A	N/A	TGGATGAAATGACATCTAAT	80	378
1447558	4914	4933	N/A	N/A	CTGATTGCTAAAGACAGCAT	40	379
1447559	17463	17482	2510	2529	ATGGCAGCTAAGTCCCCTCA	53	380
1447561	1202	1221	N/A	N/A	GGTATGTACAAATTCTACAT	71	381
1447566	4651	4670	N/A	N/A	AGAGACTTTAATACCACCAT	63	382
1447568	8111	8130	N/A	N/A	GCATATCGATAGATTATCAT	43	383
1447580	18100	18119	3147	3166	GCGATCGCTTCTTCTCGCCA	85	384
1447583	13790	13809	N/A	N/A	TAACATTACAGTCATGGTC	57	385
1447585	8253	8272	N/A	N/A	TCCGAAAAATCAATTCCATA	36	386
1447589	5114	5133	N/A	N/A	AAGGACTTCTTGCTCTTCCA	20	387
1447590	5693	5712	1067	1086	AGCTGGAACCTTATTATCTC	52†	388
1447597	9265	9284	N/A	N/A	CCTACCAGATATGCAACCAC	64	389
1447605	9148	9167	N/A	N/A	GAGCTTTCCCCACCACATAC	80	390

【 0 3 3 9 】

10

20

30

40

50

【表 6－3】

1447615	15186	15205	N/A	N/A	CCTTTCTGTACCTCTTGGAT	77	391
1447617	16684	16703	N/A	N/A	GAAAACAGCTCCATACCTCC	83	392
1447627	9601	9620	N/A	N/A	GTATACAACCTATCAGTGGA	52	393
1447628	3719	3738	N/A	N/A	GGTTAATGAATCCTATCTCT	34	394
1447633	685	704	N/A	N/A	AGGTACAGATCTTACACCAT	102	395
1447637	5901	5920	N/A	N/A	TCCCACTAATGAATATTACA	53	396
1447640	796	815	N/A	N/A	CAGTCAACTGACCTTTCGAA	71	397
1447644	32	51	32	51	AGCAAGTTTATTGACCTGCC	98	398
1447652	16922	16941	1969	1988	TCCAATTGCCTTTTGGAGA	60	399

10

【 0 3 4 0 】

20

30

40

50

【表 7 - 1】

表 6

A431 細胞における混合 PO/PS スクレオシド間結合を有する 5-10-5 MOE ギャップマーによる
CHMP7 RNA の低減

化合物 番号	配列 番号 1 開始 部位	配列 番号 1 終結 部位	配列 番号 2 開始 部位	配列 番号 2 終結 部位	配列(5'から 3')	CHMP7 (% UTC)	配列 番号
1447187	7543	7562	N/A	N/A	GCAGGCTTCTTTGTTTGCC	59	400
1447192	1307	1326	N/A	N/A	AGTCAATTCCCATATACCTA	81	401
1447196	8002	8021	N/A	N/A	GGGTGCACACCAATTCCATT	84	402
1447200	14968	14987	N/A	N/A	AGCTCAATTTACCCCTATACC	71	403
1447219	266	285	N/A	N/A	AGTATATGATAATATGCCCCA	79	404
1447221	18072	18091	3119	3138	GCATTCAGACCCCTTTCCCGT	57	405
1447225	5684	5703	1058	1077	CTTATTATCTCCCAGCATGT	13†	406
1447232	12875	12894	1357	1376	TGGTACACCCCAACATCTAC	86	407
1447237	11982	12001	N/A	N/A	AGGTCCCATCACACTACTCA	65	408
1447250	17200	17219	2247	2266	TCAGACACAGGACTGTATAA	51	409
1447254	9051	9070	N/A	N/A	TGCCTTCCTAAACAAGACCT	86	410
1447269	15185	15204	N/A	N/A	CTTTCTGTACCTCTTGGATC	80	411
1447272	11515	11534	N/A	N/A	AACCATGATCACACAAGGCA	60	412
1447275	9532	9551	N/A	N/A	GAAAGTCCTCAGCATATCCA	60	413
1447278	16313	16332	N/A	N/A	ACACTCCAAGCTAAGTCACC	72	414
1447282	11792	11811	N/A	N/A	GATGAGCCTCCATACCTTCT	90	415
1447283	17299	17318	2346	2365	GCTGCAAATCTTTCCCTTC	23	416
1447293	4650	4669	N/A	N/A	GAGACTTTAATACCACCATA	82	417
1447298	5454	5473	N/A	N/A	TCATCACGACCATTTGTAA	78	418
1447301	17002	17021	2049	2068	TGTACACACCCAGCAAGCCT	92	419
1447302	9298	9317	N/A	N/A	ACACAGACATCGAGTTTCA	78	420
1447304	5213	5232	N/A	N/A	CGGTGAGATCTCCTTTTACA	14	421
1447313	4536	4555	N/A	N/A	AACTACTGTTTCTCCTGTTC	34	422
1447318	17546	17565	2593	2612	GCGACCTCTTCTCTGAACA	62	423
1447320	16528	16547	1789	1808	AGGATGTCCAATTCCTTCTC	111	424
1447321	17075	17094	2122	2141	ATCCAGATAAAAATCAGTGGT	53	425
1447328	5815	5834	N/A	N/A	CGGTCTTTTTTCAAGAACGC	51	426
1447332	16657	16676	1918	1937	AAGGACAGTTTCTCAAGTTC	99	427
1447333	10655	10674	N/A	N/A	TCACCATTTGCTCATAACAT	42	428
1447350	18099	18118	3146	3165	CGATCGCTTCTCTCGCCAT	71	429
1447352	4549	4568	N/A	N/A	CACTGACTTCTCAACTACT	58	430

【 0 3 4 1 】

10

20

30

40

50

【表 7 - 2】

1447357	4903	4922	N/A	N/A	AGACAGCATAAAAATTTGTGC	40	431
1447367	16277	16296	N/A	N/A	TTAACACCATGGACCTGACC	70	432
1447374	11249	11268	N/A	N/A	GCTGAGGCCTGATTTCCAGC	91	433
1447377	13097	13116	N/A	N/A	GCTTTCCATGATTTCTGCAT	73	434
1447378	5862	5881	N/A	N/A	AGCAGATAAACTCAGTTATC	45	435
1447380	17420	17439	2467	2486	TCTCATTCCTTACCAGTGAAA	31	436
1447385	16425	16444	N/A	N/A	GACTGAGGTTACCAAAAACCC	49	437
1447401	10332	10351	N/A	N/A	TTATGATGATCCTTTATTCT	65	438
1447402	1197	1216	N/A	N/A	GTACAAATTCTACATAAGGA	106	439
1447406	5734	5753	N/A	N/A	GTACCCACCTTCAACAGCTC	81†	440
1447409	1817	1836	N/A	N/A	GAATTTATTACAGCTAGGCA	113	441
1447414	16321	16340	N/A	N/A	ATTCTTCCACACTCCAAGCT	70	442
1447418	14422	14441	1465	1484	TGCTTCTTTCCTGCTCGGCA	65	443
1447437	2165	2184	N/A	N/A	ACCACTTGAATATGTTTATA	101	444
1447443	27	46	27	46	GTTTATTGACCTGCCGGCCT	111	445
1447456	16805	16824	N/A	N/A	AGTCTTAATATAAACAACCC	110	446
1447457	927	946	N/A	N/A	GGACGGATACAACCCAACCTT	75	447
1447474	8109	8128	N/A	N/A	ATATCGATAGATTATCATGC	43	448
1447480	18279	18298	3326	3345	TCACCCCCAACATTTCCGTT	61	449
1447492	14030	14049	N/A	N/A	GCTAGACTTTCCACCTGGA	58	450
1447494	18207	18226	3254	3273	CCTGGAGCAAATTCCTCTCC	81	451
1447506	12549	12568	N/A	N/A	CTCAGCAAATGATATTTGGT	55	452
1447538	684	703	N/A	N/A	GGTACAGATCTTACACCATT	108	453
1447539	5692	5711	1066	1085	GCTGGAACCTTATTATCTCC	11†	454
1447543	2033	2052	N/A	N/A	TGCCATCTCTTTTATAAGAT	120	455
1447545	8220	8239	N/A	N/A	AAGTACATAGATCTCTGCAC	60	456
1447546	5110	5129	N/A	N/A	ACTTCTTGCTCTTCCAAGGC	23	457
1447552	14125	14144	N/A	N/A	GGGCACATTATACACATCTT	60	458
1447557	3712	3731	N/A	N/A	GAATCCTATCTCTTAGACCT	59	459
1447569	10068	10087	N/A	N/A	GTGGAAAGTCACTATGGATT	46	460
1447573	11156	11175	N/A	N/A	ATGACATCTAATTCCTTCC	46	461
1447577	7021	7040	N/A	N/A	GTGCTCAGTCAACACACACA	75	462
1447582	15488	15507	N/A	N/A	CCACCTTGTCCTCACCTA	73	463
1447604	5407	5426	N/A	N/A	GCATTGTTTATACTCCAGCT	2	464
1447606	4247	4266	N/A	N/A	CATCAGAGTTGACTTTCTCC	35	465
1447609	3909	3928	N/A	N/A	GTATCTCCTACAGACCTTTT	28	466
1447611	1534	1553	N/A	N/A	CTGCTCACACCATTCCTAGT	84	467
1447613	12520	12539	N/A	N/A	TTGGTCCAGAACTTTTACCT	69	468

【 0 3 4 2 】

10

20

30

40

50

【表 7 - 3】

1447618	16953	16972	2000	2019	TTGAGGGTCCTACAATGGCT	43	469
1447620	11197	11216	N/A	N/A	TCACTAGTCCTCAGTATCAC	69	470
1447621	16328	16347	N/A	N/A	AGAGATGATTCTTCCACACT	67	471
1447625	9247	9266	N/A	N/A	ACTGCAGTAACTGCACAGTA	111	472
1447631	11831	11850	N/A	N/A	ATGTACTTAATCAATCACTG	73	473
1447634	4494	4513	N/A	N/A	ACGGTTTCCACTGTATGCCA	33	474
1447641	749	768	N/A	N/A	GAGTCTTTTCAACAATGAGC	82	475
1447649	14395	14414	1438	1457	CGGGCTTCTTCTTTACACCT	76	476
1447651	4053	4072	N/A	N/A	TGAGGATAATTCTATCACCT	12	477

10

【0343】

実施例 2：A431 細胞におけるヒト CHMP7 の修飾オリゴヌクレオチドによる用量依存的阻害

上記実施例 1 から選択された修飾オリゴヌクレオチドを、A431 細胞において様々な用量で試験した。1 ウェルあたり 10,000 細胞の密度の培養 A431 細胞を、以下の表に指定する様々な濃度の修飾オリゴヌクレオチドで、遊離状態での取り込み (free uptake) により処理した。約 48 時間の処理期間の後、全 RNA を細胞から単離し、CHMP7 RNA レベルを定量的リアルタイム RTPCR によって測定した。ヒト CHMP7 プライマー・プローブセット RTS50844 (本明細書で実施例 1 に記載) を使用して、RNA レベルを上記の通りに測定した。CHMP7 RNA レベルを、RIBOGREEN (登録商標) で測定した全 RNA 含有量に対して正規化した。CHMP7 RNA の低減を、未処理の対照細胞に対する CHMP7 RNA パーセント (%UTC) として以下の表に示す。「+」がつけられている修飾オリゴヌクレオチドは、その修飾オリゴヌクレオチドが、このプライマー・プローブセットのアンプリコン領域に相補的であることを示す。追加のアッセイを使用して、アンプリコン領域に相補的な修飾オリゴヌクレオチドの効力と有効性を測定してもよい。

20

【0344】

各修飾オリゴヌクレオチドの半数最大阻害濃度 (IC₅₀) を、Excel のデータの対数／線形プロットに線形回帰を使用して計算し、これも以下の表に示す。

30

【0345】

40

50

【表 8】

表 7

A431 細胞におけるヒト CHMP7 RNA の修飾オリゴヌクレオチドによる用量依存的低減

化合物 番号	CHMP7 RNA (% UTC)				IC ₅₀ (μ M)
	62.5 nM	250.0 nM	1,000.0 nM	4,000.0 nM	
1447190	75	48	22	9	0.25
1447260†	86	79	56	26	1.13
1447309	55	26	9	5	0.06
1447314	56	25	11	7	0.06
1447315	60	28	10	3	0.08
1447326	75	29	16	8	0.16
1447431	37	13	4	1	<0.0625
1447449	78	51	25	11	0.29
1447471	60	26	9	6	0.07
1447481	56	24	14	6	0.06
1447488	70	28	12	4	0.13
1447497	54	28	15	8	0.06
1447502†	96	76	58	38	1.72
1447520	61	30	15	9	0.09
1447532	86	48	33	16	0.39
1447555†	70	45	19	4	0.19
1447602	64	30	10	4	0.10
1447624	75	45	22	9	0.24

【 0 3 4 6 】

【表 9】

表 8

A431 細胞におけるヒト CHMP7 RNA の修飾オリゴヌクレオチドによる用量依存的低減

化合物 番号	CHMP7 RNA (% UTC)				IC ₅₀ (μ M)
	62.5 nM	250.0 nM	1,000.0 nM	4,000.0 nM	
1447218†	87	55	29	12	0.40
1447228	80	40	23	9	0.24
1447233	80	70	44	22	0.65
1447256	64	37	16	6	0.13
1447273	85	51	34	19	0.42
1447279	110	62	30	18	0.63
1447285	83	61	40	29	0.65
1447331	55	26	8	2	0.06
1447364	81	56	28	11	0.36
1447369	63	42	21	14	0.15
1447370	78	57	29	12	0.34
1447421	104	76	49	33	1.22
1447433	105	86	62	45	2.60
1447535	94	42	18	7	0.31
1447549	62	42	21	5	0.14
1447560	74	43	14	8	0.20
1447567	79	47	28	13	0.30
1447595	26	5	1	1	<0.0625

10

20

30

40

50

【 0 3 4 7 】

【表 1 1】

表 10

ヒト CHMP7 に相補的な 5-10-5 MOE ギャップマーPS ヌクレオシド間結合

化合物 番号	配列(5'から 3')	配列 番号 1 開始 部位	配列 番号 1 終結 部位	配列 番号 2 開始 部位	配列 番号 2 終結 部位	配列 番号
1508916	GAAAACGGTTTCCACTGTAT	4498	4517	N/A	N/A	257
1508917	TGTTACCCTCAGATACCGCC	3950	3969	N/A	N/A	345
1508918	ATGTGATGCTATTAATAGGA	10035	10054	N/A	N/A	12

10

【0 3 5 1】

実施例 4：A 4 3 1 細胞におけるヒト CHMP7 の修飾オリゴヌクレオチドによる用量依存的阻害

上記実施例 3 に記載の修飾オリゴヌクレオチドを、A 4 3 1 細胞において様々な用量で試験した。1 ウェルあたり 10,000 細胞の密度の培養 A 4 3 1 細胞を、以下の表に指定する様々な濃度の修飾オリゴヌクレオチドで、遊離状態での取り込み (free uptake) により処理した。約 48 時間の処理期間の後、全 RNA を細胞から単離し、CHMP7 RNA レベルを定量的リアルタイム RTPCR によって測定した。ヒト CHMP7 プライマー・プローブセット RTS50844 (本明細書で実施例 1 に記載) を使用して、RNA レベルを上記の通りに測定した。CHMP7 RNA レベルを、RIBOGREEN (登録商標) で測定した全 RNA 含有量に対して正規化した。CHMP7 RNA の低減を、未処理の対照細胞に対する CHMP7 RNA パーセント (%UTC) として以下の表に示す。

20

【0 3 5 2】

各修飾オリゴヌクレオチドの半数最大阻害濃度 (IC₅₀) を、Excel のデータの対数／線形プロットに線形回帰を使用して計算し、これも以下の表に示す。

【0 3 5 3】

30

【表 1 2】

表 11

A431 細胞におけるヒト CHMP7 RNA の修飾オリゴヌクレオチドによる用量依存的低減

化合物 番号	CHMP7 RNA (% UTC)										IC ₅₀ (μM)
	0.02 nM	0.06 nM	0.24 nM	0.98 nM	3.91 nM	15.63 nM	62.5 nM	250.0 nM	1000.0 nM	4000.0 nM	
1508916	121	107	106	107	104	99	73	51	28	18	0.37
1508917	96	97	93	91	91	77	40	18	6	3	0.03
1508918	110	98	103	101	112	105	89	70	39	27	2.96

40

【配列表】

2023544162000001.app

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/53107

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - C12N 15/11, C12N 15/113, A61P 25/00, A61P 25/28 (2021.01)

CPC - C12N 2310/14, C12N 2320/12, C12N 15/111, C12N 15/113, C12N 15/1137

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 data base consulted during the international search (name of data base 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.
X	US 2013/0190385 A1 (DUCHATEAU et al.) 25 July 2013 (25.07.2013) Abstract; Claim 49; Claim 51; para [0044]; para [0057]; para [0158]; para [0167]; para [0187]	1
A	US 9,689,040 B2 (LIEBERMAN et al.) 27 June 2017 (27.06.2017) Abstract	1

☐ 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

30 December 2021 (30.12.2021)

Date of mailing of the international search report

FEB 23 2022

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents

P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Karl Rodriguez

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/53107

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. ☒ forming part of the international application as filed:

☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

☐ on paper or in the form of an image file.

b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/53107

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.: 7-74
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:
 ---Please see continuation in first extra sheet-----

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

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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/53107

Continuation of 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 searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I+, Claims 1-6, directed to an oligomeric compound comprising a modified oligonucleotide. The oligomeric compound will be searched to the extent that the oligomeric compound encompasses a modified oligonucleotide consisting of 12 linked nucleosides wherein the nucleobase sequence of the modified oligonucleotide is at least 100% complementary to an equal length portion of a CHMP7 nucleic acid, and wherein the modified oligonucleotide comprises a single modification selected from a modified sugar moiety (note, this is the first claimed modified oligonucleotide for the oligomeric compound embodiment). It is believed that claim 1 encompasses this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that the oligomeric compound encompasses a modified oligonucleotide consisting of 12 linked nucleosides wherein the nucleobase sequence of the modified oligonucleotide is at least 100% complementary to an equal length portion of a CHMP7 nucleic acid, and wherein the modified oligonucleotide comprises a single modification selected from a modified sugar moiety. Additional oligomeric compound(s) comprising additional oligonucleotide(s) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected oligomeric compound(s) comprising additional oligonucleotide(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass 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. An exemplary election would be an oligomeric compound comprising a modified oligonucleotide consisting of 12 linked nucleosides and having a nucleobase sequence comprising at least 12 contiguous nucleobases of the nucleobases of SEQ ID NO: 10, wherein the modified oligonucleotide comprises a single modification selected from a modified sugar moiety (claims 2-3).

The inventions listed as Group I+ do not relate to a single special technical feature under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special technical features

The inventions of Group I+ each include the special technical feature of a unique nucleic acid sequence. Each nucleic acid sequence has a unique target sequence, and is considered a distinct technical feature.

Common technical features

No technical features are shared between the oligonucleotide nucleic acid sequences of Group I+ and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Additionally, even if Group I+ inventions were considered to share the technical features of including:

an oligomeric compound comprising a modified oligonucleotide consisting of 12 to 50 linked nucleosides wherein the nucleobase sequence of the modified oligonucleotide is at least 90% complementary to an equal length portion of a CHMP7 nucleic acid, and wherein the modified oligonucleotide comprises at least one modification selected from a modified sugar moiety and a modified internucleoside linkage;

these shared technical features are previously disclosed by US 2013/0190385 A1 to Duchateau et al., (hereinafter 'Duchateau').

Duchateau teaches an oligomeric compound comprising a modified oligonucleotide consisting of 12 to 50 linked nucleosides wherein the nucleobase sequence of the modified oligonucleotide is at least 90% complementary to an equal length portion of a CHMP7 nucleic acid, and wherein the modified oligonucleotide comprises at least one modification selected from a modified sugar moiety and a modified internucleoside linkage (Claim 49 - 'A method of increasing endonuclease-induced homologous recombination in a eukaryotic cell, tissue or organ with an interfering RNA'; Claim 51 - 'The method of claim 49, wherein said interfering RNA is a siRNA, a miRNA or a shRNA'; para [0158] - 'Table I ... CHMP7'; para [0167] - 'The iRNAs according to the invention may optionally be chemically modified'; para [0044] - 'A "short interfering RNA" or "siRNA" comprises a RNA duplex (double-stranded region) and can further comprises one or two single-stranded overhangs, 3' or 5' overhangs. Each molecule of the duplex can comprise between 17 and 29 nucleotides, including 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, and 29 nucleotides. siRNAs can additionally be chemically modified.').

As the technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered special technical features that would otherwise unify the groups.

Therefore, Group I+ inventions lack unity under PCT Rule 13 because they do not share the same or corresponding special technical feature.

*Continuation of Item 4 above: claims 7-74 are held unsearchable because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

フロントページの続き

(32)優先日 令和2年10月1日(2020.10.1)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

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

弁理士 武田 健志

(72)発明者 ブイ, フィンーホア

アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 2 0 1 0, カールズバッド, ガゼル・コート 2 8 5 5

F ターム (参考) 4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA01 MA04 MA17 MA66 NA14 ZA02
ZA15 ZB21