

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2017年6月8日(08.06.2017)



(10) 国際公開番号
WO 2017/094897 A1

- (51) 国際特許分類:
C12N 15/115 (2010.01) A61P 31/00 (2006.01)
A61K 31/7088 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01) A61P 37/06 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01) A61P 37/08 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2016/085948
- (22) 国際出願日: 2016年12月2日(02.12.2016)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2015-237491 2015年12月4日(04.12.2015) JP
- (71) 出願人: 全薬工業株式会社 (ZENYAKU KOGYO CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1128650 東京都文京区大塚五丁目6番15号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 春田 和彦 (HARUTA, Kazuhiko); 〒1780062 東京都練馬区大泉町二丁目3番7号 全薬工業株式会社研究開発センター内 Tokyo (JP). 山▲崎▼ 宏亮 (YAMAZAKI, Hiroaki); 〒

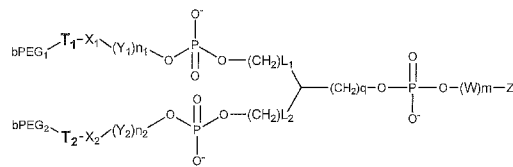
1128650 東京都文京区大塚五丁目6番15号
全薬工業株式会社内 Tokyo (JP).

- (74) 代理人: 高島 一 (TAKASHIMA, Hajime); 〒5410044 大阪府大阪市中央区伏見町四丁目1番1号 明治安田生命大阪御堂筋ビル Osaka (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): 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, JP, KE, KG, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,

[続葉有]

(54) Title: ANTI-IL-17 APTAMER HAVING IMPROVED RETENTION IN BLOOD

(54) 発明の名称: 血中滞留性を改善した抗IL-17アプタマー



(57) Abstract: The present invention provides an anti-IL-17 aptamer having improved in-vivo stability, said aptamer comprising a compound represented by formula (I) (wherein the symbols are as defined in the description) or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and a solvate or hydrate.

(57) 要約: 本発明は、下記式 (I) : (各記号は明細書に定義される通りである。) で表される化合物又はその製薬学的に許容される塩、溶媒和物若しくは水和物からなる、生体内での安定性が改善された抗IL-17アプタマーを提供する。

[図1]
AA
構造1: 核酸部分は、実施例配列1 (試験例1、4~7-1、7-2)、実施例配列2 (試験例1、2、4、6)、実施例配列3 (試験例3、4~7-1)、実施例配列4 (試験例1、4~6、7-1)

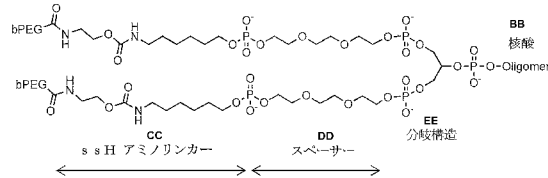


Fig. 1:
AA Structure 1: The nucleic acid portion represents example sequence 1 (experiment examples 1, 4 to 7-1, and 7-2), example sequence 2 (experiment examples 1, 2, 4, and 6), example sequence 3 (experiment examples 3, and 4 to 7-1), and example sequence 4 (experiment examples 1, 4 to 6, and 7-1).
BB Nucleic acid
CC ssH amino linker
DD Spacer
EE Branch structure

WO 2017/094897 A1

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), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第 21 条(3))
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト
(規則 5.2(a))

明 細 書

発明の名称：血中滞留性を改善した抗IL-17アプタマー

技術分野

[0001] 本発明は、インターロイキン17（IL-17）に対するアプタマー及びその利用方法などに関する。

背景技術

[0002] 本発明者らは以前に、従来公知の抗IL-17アプタマーに比べて顕著に高い、IL-17とIL-17受容体との結合阻害活性を有し、IL-17の生理活性を阻害できる、極めて良質な抗IL-17アプタマーを作製することに成功し、それを特許文献1に開示した。

[0003] ところで、アプタマーの活性本体は核酸であるが、そのまま生体に投与すると数分で腎臓から排泄され血中から消失してしまう。そこで、腎臓での排泄を遅らせ血中滞留性を確保するためにコレステロールやポリエチレングリコール（PEG）等を付加する。PEGは分岐が多く、かつ分子量が大きい程血中滞留性が良くなること（直鎖<2分岐<4分岐、20kDa<40kDa<80kDa）も知られているが、十分満足のいくものではない（特許文献2、3）。しかも、PEGの分岐数と分子量に比例してコストは増大し、現実使用できるPEGが限られてくるという問題もある。一方、予め2つに分岐した官能基を核酸に付加する（特許文献4）、あるいは dendritic（枝分かれ）構造を利用し（特許文献5）、それぞれの末端にPEGを付加することで血中滞留性を改善した報告もあるが、核酸部分に関する具体的なデータの記載はない。また、核酸の場合は、PEGを付加することにより、活性が減弱する場合もあることが知られている。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：WO2014/148638

特許文献2：WO2006/029258

特許文献3：US 20030114647

特許文献4：WO 2008/048079

特許文献5：特表2009-517414

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 本発明は、アプタマー医薬品の最大の課題である生体内での血中滞留性が改善された抗IL-17アプタマーを提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0006] 特許文献1では、抗IL-17アプタマーにおける結合活性の増強と血中の核酸分解酵素（ヌクレアーゼ）に対する抵抗性を高めた構造最適化を検討したが、マウスやヒトの生体に投与する場合には、分子量の大きいPEG等を付加し腎臓での排泄を遅らせることにより、血中での滞留性を高める工夫が必要である。しかし、公知技術である2～4分岐型40kDa PEGを使用した場合の血中滞留性の指標である血中半減期は7時間程度であり、より改善が望まれていた。

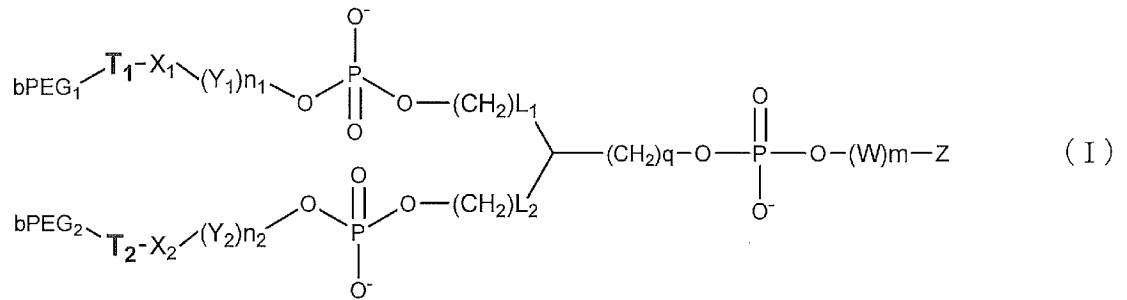
[0007] そこで本発明者らは、鋭意検討を行ったところ、当該抗IL-17アプタマーに対し、新規にブランチャーで「分岐構造」を導入し、この部分を介してそれぞれの末端に40kDaのPEGを結合して合計80kDaにすることにより、直接80kDaのPEGをつけるよりも、予想以上に高い血中滞留性を確保できることを見出した。本発明者らは更に、分岐構造を導入したとしても付加するPEGが直鎖では血中滞留性は上がらず、PEG自体も分岐している必要があることも見出した。本発明者らはこれらの知見に基づき更なる検討を行い、本発明を完成するに至った。

[0008] 本発明は即ち、以下の通りである。

[1] 下記式(1)：

[0009]

[化1]



[0010] [式中、

mは0又は1であり、

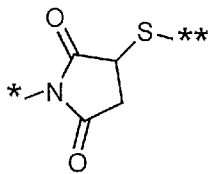
n₁及びn₂は、同一又は異なって、0又は1であり、

L₁及びL₂は、同一又は異なって、1～6の整数であり、

qは0～6の整数であり、

T₁及びT₂は、同一又は異なって、-C(O)-NH-、又は

[0011] [化2]



[0012] (*はbPEG₁又はbPEG₂の結合位置を示し、**はX₁又はX₂の結合位置を示す。)であり、

X₁及びX₂は、同一又は異なって、-(CH₂)₃-、-(CH₂)₆-、-(CH₂)₂OC(=O)NH(CH₂)₆-、-(CH₂)₂NHC(=O)O(CH₂)₆-、又は-(CH₂)₂-[O(CH₂)₂]_g- (ここで、gは2～5の整数である。)であり、

Y₁及びY₂は、同一又は異なって、-OP(=O)(O⁻)O(CH₂)₃-、-OP(=O)(O⁻)O(CH₂)₆-、-OP(=O)(O⁻)O(CH₂)₁₂-、又は-OP(=O)(O⁻)-[O(CH₂)₂]_j- (ここで、jは2～6の整数である。)であり、

Wは、-(CH₂)₃OP(=O)(O⁻)O-、-(CH₂)₆OP(=O)(

O⁻) O⁻、 - (CH₂)₁₂OP (=O) (O⁻) O⁻、又は - [O (CH₂)₂]_j-OP (=O) (O⁻) - であり、(ここで、jは2～6の整数である。)

) であり、

bPEG₁及びbPEG₂は、同一又は異なって、分岐鎖を持つ10～80kDaのポリエチレングリコールであり、

Zは、下記式(1a)：

g (M) g (M) g (M) u (M) a' (M) g' (X₁) c (M) c (M)
g' g (M) a' (X₄) g (X₅) g (M) a (M) g (X₅) u' (F) c (X₇) a'
(X₂) g (X₆) u' (F) r (X₃) a' (X₃) u (M) c (M)
g (M) g (M) u' (X₇) a' (M) c' (M) c' (M) c' (M) (配列番号105)

又は下記式(1b)：

g (M) g (M) u (M) a' (M) g' (X₁) c (M) c (M) g' g (M) a'
(X₄) g (X₅) g (M) a (M) g (X₅) u' (F) c (X₇) a'
(X₂) g (X₆) u' (F) r (X₃) a' (X₃) u (M) c (M) g (M) g (M) u'
(X₇) a' (M) c' (M) c' (M) (配列番号106)

又は下記式(1c)：

g (M) u (M) a' (M) g' (X₁) c (M) c (M) g' g (M) a'
(X₄) g (X₅) g (M) a (M) g (X₅) u' (F) c (X₇) a' (X₂)
g (X₆) u' (F) r (X₃) a' (X₃) u (M) c (M) g (M) g (M) u'
(X₇) a' (M) c' (M) (配列番号107)

又は下記式(1d)：

u (M) a' (M) g' (X₁) c (M) c (M) g' g (M) a' (X₄) g
(X₅) g (M) a (M) g (X₅) u' (F) c (X₇) a' (X₂) g (X₆)
u' (F) r (X₃) a' (X₃) u (M) c (M) g (M) g (M) u' (X₇)
) a' (M) (配列番号108)

{上記の式(1a)、(1b)、(1c)及び(1d)中、

a、g、c及びuは、それぞれ、塩基がアデニン、グアニン、シトシン及び

ウラシルであるリボヌクレオチドを示し、

r は、塩基がアデニン又はグアニンであるリボヌクレオチドを示し、

a'、g' 及び c' は、それぞれ、塩基がアデニン、グアニン及びシトシンである、リボヌクレオチド又はデオキシリボヌクレオチドを示し、

u' は、塩基がウラシルであるリボヌクレオチド、塩基がウラシルであるデオキシリボヌクレオチド又は塩基がチミンであるデオキシリボヌクレオチドを示し、

ヌクレオチドにおける括弧は、そのヌクレオチドの修飾を示し、

(M) は、ヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、そのリボースの 2' 位のヒドロキシル基が O-メチル基で置き換えられていることを示し、

(F) は、ヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、そのリボースの 2' 位のヒドロキシル基がフッ素原子で置き換えられていることを示し、

(X₁) は、ヌクレオチドが非修飾であるか、ホスホロチオエート化されているか、又はヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、そのリボースの 2' 位のヒドロキシル基がフッ素原子で置き換えられていることを示し、

(X₂) は、ヌクレオチドが非修飾であるか、又はヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、そのリボースの 2' 位のヒドロキシル基がフッ素原子で置き換えられていることを示し、

(X₃) は、ヌクレオチドが非修飾であるか、又はヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、そのリボースの 2' 位のヒドロキシル基が O-メチル基で置き換えられていることを示し、

(X₄) は、ヌクレオチドが非修飾であるか、又はヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、そのリボースの 2' 位のヒドロキシル基がフッ素原子又は O-メチル基で置き換えられていることを示し、

(X₅) は、ヌクレオチドが非修飾であるか、ホスホロチオエート化されていることを示し、

(X₆) は、ヌクレオチドが非修飾であるか、ホスホロチオエート化されているか、又はヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、そのリボースの 2'

位のヒドロキシル基がO-メチル基で置き換えられていることを示し、

(X₇) は、ヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、そのリボースの2'位のヒドロキシル基がフッ素原子又はO-メチル基で置き換えられていることを示す。}、

又は下記式 (I I a) :

g (x₁) g (x₁) g (x₁) u (F) a g (S) c (F) c (F) g' (S)
g (x₂) a g g a g u (F) c (F) a g u (F) a a u (F) c (F) g
g u (F) a c' (x₃) c' (x₃) c' (x₃) (配列番号109)

又は下記式 (I I b) :

g (x₁) g (x₁) u (F) a g (S) c (F) c (F) g' (S) g (x₂)
a g g a g u (F) c (F) a g u (F) a a u (F) c (F) g g u (F
) a c' (x₃) c' (x₃) (配列番号110)

又は下記式 (I I c) :

g (x₁) u (F) a g (S) c (F) c (F) g' (S) g (x₂) a g g a
g u (F) c (F) a g u (F) a a u (F) c (F) g g u (F) a c'
(x₃) (配列番号111)

{上記の式 (I I a)、(I I b) 及び (I I c) 中、

(S) は、ヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、ホスホロチオエート化されていることを示し、

(x₁) は、ヌクレオチドが Locked Nucleic Acid (LNA) 修飾されているか、又はヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、そのリボースの2'位のヒドロキシル基がO-メチル基で置き換えられていることを示し、

(x₂) は、ヌクレオチドが非修飾であるか、又はヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、そのリボースの2'位のヒドロキシル基がO-メチル基で置き換えられていることを示し、

(x₃) は、ヌクレオチドが非修飾であるか、又はLNA修飾されていることを示し、

その他の記号は前記と同義である。}

で表される配列を含むアプタマーである。]

で表される化合物又はその製薬学的に許容される塩、溶媒和物若しくは水和物。

[2] mが0であり、

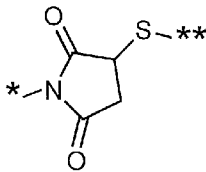
n_1 及び n_2 がいずれも、0又は1であり、

L_1 及び L_2 がいずれも1であり、

qが0であり、

T_1 及び T_2 は、同一又は異なって、 $-C(O)-NH-$ 、又は、

[0013] [化3]



[0014] (*はbPEG₁又はbPEG₂の結合位置を示し、**はX₁又はX₂の結合位置を示す。)であり、

X₁及びX₂が同一であって、 $-(CH_2)_6-$ 、 $-(CH_2)_2OC(=O)NH(CH_2)_6-$ 、 $-(CH_2)_2NHC(=O)O(CH_2)_6-$ 、又は $-(CH_2)_2-[O(CH_2)_2]_3-$ であり、且つ、

Y₁及びY₂がいずれも $-OP(=O)(O^-)O(CH_2)_3-$ 、 $-OP(=O)(O^-)O(CH_2)_6-$ 、 $-OP(=O)(O^-)O(CH_2)_{12}-$ 、又は $-OP(=O)(O^-)-[O(CH_2)_2]_3-$ である、

上記[1]に記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩、溶媒和物若しくは水和物。

[3] mが0であり、

n_1 及び n_2 がいずれも0又は1であり、

L_1 及び L_2 がいずれも1であり、

qが0であり、

T_1 及び T_2 がいずれも $-C(O)-NH-$ であり、

X_1 及び X_2 がいずれも、 $-(CH_2)_6-$ 、 $-(CH_2)_2OC(=O)NH(CH_2)_6-$ 、 $-(CH_2)_2NHC(=O)O(CH_2)_6-$ 、又は $-(CH_2)_2-[O(CH_2)_2]_3-$ であり、且つ、

Y_1 及び Y_2 がいずれも $-OP(=O)(O^-)O(CH_2)_3-$ 、 $-OP(=O)(O^-)O(CH_2)_6-$ 、 $-OP(=O)(O^-)O(CH_2)_{12}-$ 、又は $-OP(=O)(O^-)-[O(CH_2)_2]_3-$ である、

上記 [1] に記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩、溶媒和物若しくは水和物。

[4] m が0であり、

n_1 及び n_2 がいずれも1であり、

L_1 及び L_2 がいずれも1であり、

q が0であり、

T_1 及び T_2 がいずれも $-C(O)-NH-$ であり、

X_1 及び X_2 がいずれも $-(CH_2)_6-$ 、又は $-(CH_2)_2OC(=O)NH(CH_2)_6-$ であり、且つ、

Y_1 及び Y_2 がいずれも $-OP(=O)(O^-)-[O(CH_2)_2]_3-$ である、

、

上記 [1] に記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩、溶媒和物若しくは水和物。

[5] m が0であり、

n_1 及び n_2 がいずれも0であり、

L_1 及び L_2 がいずれも1であり、

q が0であり、且つ、

T_1 及び T_2 がいずれも $-C(O)-NH-$ であり、

X_1 及び X_2 がいずれも $-(CH_2)_6-$ 、 $-(CH_2)_2OC(=O)NH(CH_2)_6-$ 、又は $-(CH_2)_2-[O(CH_2)_2]_3-$ である、

上記 [1] に記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩、溶媒和物若しくは水和物。

[6] Zが、配列番号1～104に示す配列を含むアプタマーである、上記[1]～[5]のいずれかに記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩、溶媒和物若しくは水和物。

[7] bPEG₁及びbPEG₂が、分岐鎖を持つ15～45kDaのポリエチレングリコールであり、且つ、

Zが、配列番号1～104のいずれかに示す配列を含むアプタマーである、上記[1]～[6]のいずれかに記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩、溶媒和物若しくは水和物。

[8] bPEG₁及びbPEG₂が、分岐鎖を持つ35～45kDaのポリエチレングリコールである、上記[1]～[7]のいずれかに記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩、溶媒和物若しくは水和物。

[9] 上記[1]～[8]のいずれかに記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩、溶媒和物若しくは水和物を含む医薬。

[10] 炎症性疾患、自己免疫疾患、癌、アレルギー、又は感染症に関連する治療又は予防に用いるための、上記[9]に記載の医薬。

発明の効果

[0015] 本発明によれば、生体内での血中滞留性が改善された抗IL-17アプタマーが提供される。本発明のアプタマーは、IL-17への結合活性を維持し、動物疾患への薬効も保ったまま、血中半減期を従来限界であった10～20時間程度から大幅（例えば、サルで100時間程度）に延長することができる。そのため、当該構造を有するアプタマーを用いた乾癬等の疾患への全身投与による治療可能性を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0016] [図1]実施例で使用したアプタマーの構造を示す図である。図中、Oligomer部分の核酸は実施例配列1～4に示した配列である。

[図2-1]実施例におけるアプタマーの合成手順の概略を示す図である。

[図2-2]実施例におけるアプタマー合成の最終産物の確認例として、実施例配列4のPEG化オリゴヌクレオチドのMALDI-TOF-MS分析結果を示

す図である。

[図3]アプタマー（実施例配列1）をサルに静脈内投与（黒丸）又は皮下投与（白丸）したときの血中濃度の推移を示す図である。各値は平均値±標準偏差（ $n=3$ ）を示す。

[図4]アプタマー（実施例配列3）をサルに静脈内投与（黒丸）又は皮下投与（白丸）したときの血中濃度の推移を示す図である。各値は平均値±標準偏差（ $n=3$ ）を示す。

[図5]アプタマー（実施例配列4）をサルに静脈内投与（黒丸）又は皮下投与（白丸）したときの血中濃度の推移を示す図である。各値は平均値±標準偏差（ $n=3$ ）を示す。

[図6]アプタマー（実施例配列1）の *in vivo* における IL-17 中和活性（空気嚢炎症モデル）を示す図である。各値は平均値+標準誤差（ $n=7, 8$ ）。★ $p<0.01$ 、★★ $p<0.001$ （IL-17+、saline 投与群との比較、Dunnett の検定）。-：ヒト IL-17 を含まない 2%カルボキシメチルセルロース水溶液を投与。+：ヒト IL-17（ $0.5 \mu\text{g}$ ）を含む 2%カルボキシメチルセルロース水溶液を投与。

[図7]アプタマー（実施例配列3）の *in vivo* における IL-17 中和活性（空気嚢炎症モデル）を示す図である。各値は平均値+標準誤差（ $n=7, 8$ ）。* $p<0.001$ （IL-17+、saline 投与群との比較、Dunnett の検定）。-：ヒト IL-17 を含まない 2%カルボキシメチルセルロース水溶液を投与。+：ヒト IL-17（ $0.5 \mu\text{g}$ ）を含む 2%カルボキシメチルセルロース水溶液を投与。

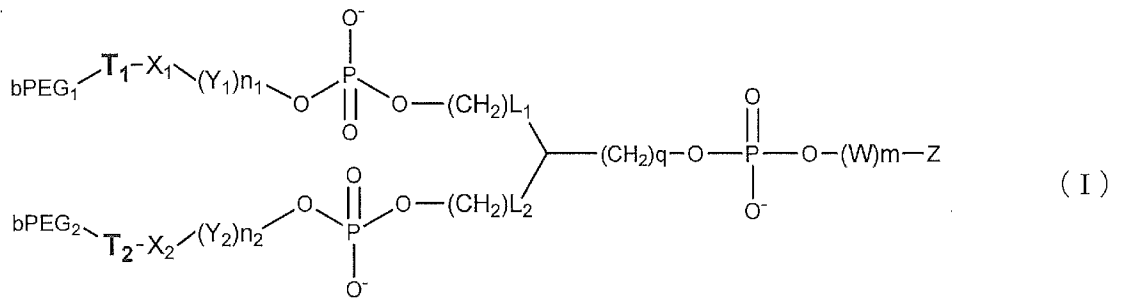
[図8]アプタマー（実施例配列4）の *in vivo* における IL-17 中和活性（空気嚢炎症モデル）を示す図である。各値は平均値+標準誤差（ $n=8$ ）。* $p<0.05$ 、** $p<0.01$ 、*** $p<0.001$ （IL-17+、saline 投与群との比較、Dunnett の検定）。-：ヒト IL-17 を含まない 2%カルボキシメチルセルロース水溶液を投与。+：ヒト IL-17（ $0.5 \mu\text{g}$ ）を含む 2%カルボキシメチルセルロース水溶液を投与。

[図9]アプタマー（実施例配列1）の *in vivo*におけるIL-17中和活性（コラーゲン誘導関節炎モデル）を示す図である。関節炎スコア（1肢あたり） 0：症状なし、1：1関節のみの発赤・腫脹、2：2関節以上の発赤・腫脹、3：肢全体の腫脹、4：肢全体の最大の腫脹。黒丸：PEG-リンカー-スパーサー-ブランチャーあり（総PEG分子量：80kDa）、黒三角：saline。各値は4肢の関節炎スコアの平均値±標準誤差（n=12）。*p<0.01、**p<0.001（saline投与群との比較、Dunnettの検定）。

発明を実施するための形態

[0017] 本発明は、下記式（I）：

[0018] [化4]



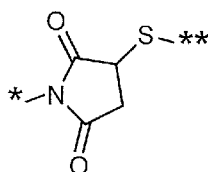
[0019]（式中の各記号の定義については後述する。）で表される化合物又はその製薬学的に許容される塩、溶媒和物若しくは水和物（以下、これらを総称して本発明の化合物ともいう。）を提供する。

[0020] 式（I）において、mは0又は1である。

[0021] n₁及びn₂は、同一又は異なって、0又は1である。好ましくは、n₁及びn₂がいずれも0又は1であり、より好ましくは、合成時のPEG化収率の観点からn₁及びn₂はいずれも1である。

[0022] T₁及びT₂は、同一又は異なって、-C(O)-NH-、又は

[0023] [化5]



[0024] (*はbPEG₁又はbPEG₂の結合位置を示し、**はX₁又はX₂の結合位置を示す。)である。T₁及びT₂は、好ましくは同一であり、より好ましくはいずれも-C(O)-NH-である。

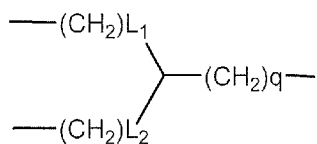
[0025] X₁及びX₂は、同一又は異なって、-(CH₂)₃-、-(CH₂)₆-、-(CH₂)₂OC(=O)NH(CH₂)₆-、-(CH₂)₂NHC(=O)O(CH₂)₆-、又は-(CH₂)₂-[O(CH₂)₂]_g- (ここで、gは2~5の整数である。)である。好ましくは、X₁及びX₂は同一である。

[0026] Y₁及びY₂は、同一又は異なって、-OP(=O)(O⁻)O(CH₂)₃-、-OP(=O)(O⁻)O(CH₂)₆-、-OP(=O)(O⁻)O(CH₂)₁₂-、又は-OP(=O)(O⁻)-[O(CH₂)₂]_j- (ここで、jは2~6の整数である。)である。好ましくは、Y₁及びY₂は同一である。

[0027] Wは、-(CH₂)₃OP(=O)(O⁻)O-、-(CH₂)₆OP(=O)(O⁻)O-、-(CH₂)₁₂OP(=O)(O⁻)O-、又は-[O(CH₂)₂]_j-OP(=O)(O⁻)-であり、(ここで、jは2~6の整数である。)である。

[0028] 上述の通り、本発明の化合物においてはブランチャーにより枝分かれ構造(分岐構造)が付与されているので、2つのPEG鎖をアダプターに付加することができる。ブランチャーは下記式に示される構造を有し得る。

[0029] [化6]



[0030] ここで、L₁及びL₂は、同一又は異なって、1~6の整数である。好ましくは、L₁及びL₂は同一である。

qは0~6の整数である。

[0031] 上記式(1)に見られる通り、本発明の化合物は、アダプター構造(式(1)中のZ)に加えてリンカー(式(1)中のX₁、X₂)及び任意にスペーサー(式(1)中のY₁、Y₂、W)を含む。

[0032] 一つの実施形態において、上記式 (1) において、 T_1 及び T_2 はいずれも $-C(O)-NH-$ であり、 X_1 及び X_2 は、同一又は異なって、 $-(CH_2)_3-$ 、 $-(CH_2)_6-$ 、 $-(CH_2)_2OC(=O)NH(CH_2)_6-$ 、又は $-(CH_2)_2-[O(CH_2)_2]_g-$ (ここで、 g は 2~5 の整数である。) であり、 Z は、式 (1a) 又は式 (11a) で表される配列を含むアプタマーである。当該実施形態において、例えば、(1) m が 0 であり、 n_1 及び n_2 がいずれも 1 であり、 L_1 及び L_2 がいずれも 1 であり、 q が 0 であり、 X_1 及び X_2 が同一であって、 $-(CH_2)_6-$ 、 $-(CH_2)_2OC(=O)NH(CH_2)_6-$ 、又は $-(CH_2)_2-[O(CH_2)_2]_3-$ であり、且つ、 Y_1 及び Y_2 がいずれも $-OP(=O)(O^-)-[O(CH_2)_2]_3-$ であるか、又は、(2) m が 0 であり、 n_1 及び n_2 がいずれも 0 であり、 L_1 及び L_2 がいずれも 1 であり、 q が 0 であり、且つ、 X_1 及び X_2 が同一であって、 $-(CH_2)_6-$ 、 $-(CH_2)_2OC(=O)NH(CH_2)_6-$ 、又は $-(CH_2)_2-[O(CH_2)_2]_3-$ である。

[0033] 好ましい実施形態において、 m は 0 であり、 n_1 及び n_2 はいずれも 0 又は 1 であり、 L_1 及び L_2 はいずれも 1 であり、 q は 0 であり、 T_1 及び T_2 はいずれも $-C(O)-NH-$ であり、 X_1 及び X_2 はいずれも $-(CH_2)_6-$ 、 $-(CH_2)_2OC(=O)NH(CH_2)_6-$ 、 $-(CH_2)_2NHC(=O)O(CH_2)_6-$ 、又は $-(CH_2)_2-[O(CH_2)_2]_3-$ であり、且つ、 Y_1 及び Y_2 はいずれも $-OP(=O)(O^-)-[O(CH_2)_2]_3-$ である。別の好ましい実施形態において、 m は 0 であり、 n_1 及び n_2 はいずれも 0 であり、 L_1 及び L_2 はいずれも 1 であり、 q は 0 であり、 T_1 及び T_2 はいずれも $-C(O)-NH-$ であり、且つ、 X_1 及び X_2 はいずれも $-(CH_2)_6-$ 、 $-(CH_2)_2OC(=O)NH(CH_2)_6-$ 、 $-(CH_2)_2NHC(=O)O(CH_2)_6-$ 、又は $-(CH_2)_2-[O(CH_2)_2]_3-$ である。

[0034] $bPEG_1$ 及び $bPEG_2$ は、同一又は異なって、分岐鎖を持つ 10~80 kDa のポリエチレングリコール (分岐 PEG、 $bPEG$) である。PEG の分岐の種類は問わず、例えば、従来技術である 2 鎖分岐型、3 鎖分岐型、

4鎖分岐型等であってよい。

[0035] PEGは、好ましくは分岐鎖を持つ10～80kDaのPEGであり、より好ましくは分岐鎖を持つ15～45kDaのPEG、更により好ましくは分岐鎖を持つ35～45kDaのPEG（例えば約40kDa）である。

[0036] このようなPEGとしては、当業者であれば市販あるいは公知のPEGを適宜選択して用いることができる（例えば、http://www.peg-drug.com/peg_product/branched.htmlを参照のこと）が、本発明のアプタマーに適用するPEGの好適例として具体的には、分子量40000の2分岐GS型PEG（SUNBRIGHT GL2-400GS2 日油社製）、分子量40000の2分岐TS型PEG（SUNBRIGHT GL2-400TS 日油社製）、分子量40000の4分岐TS型PEG（SUNBRIGHT GL4-400TS 日油社製）、分子量80000の2分岐TS型PEG（SUNBRIGHT GL2-800TS 日油社製）、または分子量80000の4分岐TS型PEG（SUNBRIGHT GL4-800TS 日油社製）、アミド構造により2鎖に分岐した分子量40000のJenKem社製 Y-shape 40kDa PEGなどが挙げられる。

[0037] Zは、下記式（1a）：

$$\begin{aligned} &g(M)g(M)g(M)u(M)a'(M)g'(X_1)c(M)c(M) \\ &g'g(M)a'(X_4)g(X_5)g(M)a(M)g(X_5)u'(F)c(X_7) \\ &X_7)a'(X_2)g(X_6)u'(F)r(X_3)a'(X_3)u(M)c(M) \\ &g(M)g(M)u'(X_7)a'(M)c'(M)c'(M)c'(M)(\\ &\text{配列番号105}) \end{aligned}$$

又は下記式（1b）：

$$\begin{aligned} &g(M)g(M)u(M)a'(M)g'(X_1)c(M)c(M)g'g(M) \\ &M)a'(X_4)g(X_5)g(M)a(M)g(X_5)u'(F)c(X_7)a \\ &'(X_2)g(X_6)u'(F)r(X_3)a'(X_3)u(M)c(M)g(M) \\ &)g(M)u'(X_7)a'(M)c'(M)c'(M)(\text{配列番号106}) \end{aligned}$$

又は下記式 (I c) :

g (M) u (M) a' (M) g' (X₁) c (M) c (M) g' g (M) a'
 (X₄) g (X₅) g (M) a (M) g (X₅) u' (F) c (X₇) a' (X₂)
 g (X₆) u' (F) r (X₃) a' (X₃) u (M) c (M) g (M) g (M)
 u' (X₇) a' (M) c' (M) (配列番号107)

又は下記式 (I d) :

u (M) a' (M) g' (X₁) c (M) c (M) g' g (M) a' (X₄) g
 (X₅) g (M) a (M) g (X₅) u' (F) c (X₇) a' (X₂) g (X₆)
 u' (F) r (X₃) a' (X₃) u (M) c (M) g (M) g (M) u' (X₇)
) a' (M) (配列番号108)

又は下記式 (II a) :

g (x₁) g (x₁) g (x₁) u (F) a g (S) c (F) c (F) g' (S)
 g (x₂) a g g a g u (F) c (F) a g u (F) a a u (F) c (F) g
 g u (F) a c' (x₃) c' (x₃) c' (x₃) (配列番号109)

又は下記式 (II b) :

g (x₁) g (x₁) u (F) a g (S) c (F) c (F) g' (S) g (x₂)
 a g g a g u (F) c (F) a g u (F) a a u (F) c (F) g g u (F
) a c' (x₃) c' (x₃) (配列番号110)

又は下記式 (II c) :

g (x₁) u (F) a g (S) c (F) c (F) g' (S) g (x₂) a g g a
 g u (F) c (F) a g u (F) a a u (F) c (F) g g u (F) a c'
 (x₃) (配列番号111)

(ここで、式中の記号は上記の通りである。)

で表される配列を含むアプタマーである。

[0038] また、好ましい実施態様において、Zは、下記式 (I a') :

g (M) g (M) g (M) u (M) a' (M) g (X₅) c (M) c (M) G
 g (M) a (X₄) g g (M) a (M) g (X₅) u' (F) c (X₇) a (X₂)
) g (X₅) u' (F) r (X₃) a (X₃) u (M) c (M) g (M) g (M)

u (X₇) a (M) c' (M) c' (M) c' (M) (配列番号112)

[式中、a、g、c、u及びr、a'、c'及びu'、並びに(M)、(F)及び(X₂)～(X₅)及び(X₇)は式(1a)と同義であり、Gは、塩基がグアニンであるデオキシリボヌクレオチドを示す]で表される配列を含むアプタマーである。

[0039] また、好ましい実施態様において、Zは、下記式(1a''') :

g (M) g (M) g (M) u (M) a' (M) g' (X₁) c (M) c (M) g' g (M) a' (X₂) g g (M) a (M) g u' (F) c (F) a' (X₂) g u' (F) a (X₃) a' (X₃) u (M) c (M) g (M) g (M) u' (F) a' (M) c' (M) c' (M) c' (M) (配列番号113)

[式中、a、g、c及びu、a'、g'、c'及びu'、並びに(M)、(F)及び(X₁)～(X₃)は、式(1a)と同義である。]で表される配列を含むアプタマーである。

[0040] また、好ましい実施態様において、Zは、下記式(1a'') :

g (M) g (M) g (M) u (M) a' (M) g (X₅) c (M) c (M) G g (M) a (X₇) g (X₅) g (M) a (M) g (X₅) u' (F) c (X₇) a (F) g (X₆) u' (F) r (X₃) a (X₃) u (M) c (M) g (M) g (M) u (X₇) a' (M) c' (M) c' (M) c' (M) (配列番号114)

[式中、a、g、c、u及びr、a'、c'及びu'、並びに(M)、(F)、(X₃)及び(X₅)～(X₇)は式(1a)と同義であり、Gは、塩基がグアニンであるデオキシリボヌクレオチドを示す]で表される配列を含むアプタマーである。

[0041] また、好ましい実施態様において、Zは、式(1a'')において、3'末端側のc' (M) c' (M) c' (M)がc (M) c (M) c (M)であるアプタマーである。

[0042] アプタマーとは、所定の標的分子に対する結合活性を有する核酸分子をいう。アプタマーは、所定の標的分子に対して結合することにより、所定の標

的分子の活性を阻害し得る。本発明において、アプタマーは、リボヌクレオチド、デオキシリボヌクレオチド、修飾核酸又はそれらの混合物であり得る。アプタマーはまた、直鎖状又は環状の形態であり得る。

[0043] 本発明において、アプタマーは、IL-17に結合し、IL-17とIL-17受容体との結合を阻害し得る。IL-17とはTh17細胞などによって分泌されるサイトカインで、例えばAccession code AAH67505やNP002181で表されるアミノ酸配列を持つタンパク質である。IL-17はIL-17A又はCTLA-8と呼ばれることもある。本発明で示すIL-17は動物体内で作られる他、マウスなどの哺乳細胞、昆虫細胞、大腸菌などの細胞を用いて作製することができ、更に、化学合成によっても作ることができる。培養細胞や化学合成によって作製する場合、容易に変異体を作製することができる。ここで変異体とはアミノ酸が数個置換されたものや一部分のアミノ酸配列を意味し、本来IL-17が有している少なくとも一つ以上の活性を有しているタンパク質又はペプチドを意味する。アミノ酸が置換される場合、置換アミノ酸は天然のアミノ酸であってもよいし非天然のアミノ酸であってもよい。本発明で言うIL-17はこれらの変異体を含む。

[0044] IL-17受容体とはIL-17が結合する細胞表面タンパク質で、細胞内のシグナリングを媒介するタンパク質を意味する。IL-17受容体ファミリーとしてIL-17RA、IL-17RB、IL-17RC、IL-17RD、IL-17REが知られている。本発明で言うIL-17受容体とは天然のアミノ酸配列を含むタンパク質であってもよいし、その変異体であってもよい。ここで変異体とはアミノ酸が数個置換されたものや一部分のアミノ酸配列を意味し、IL-17に対して結合活性を有するタンパク質又はペプチドを意味する。本発明の化合物は、IL-17とIL-17受容体との結合を阻害し得るものである。結合阻害活性は、Biacore試験等の自体公知の方法により測定することができる（例えば、WO2014/148638を参照）。

[0045] 好ましい態様によれば、該アプタマー、従って本発明の化合物はIL-17に結合し、IL-17とIL-17受容体との結合を阻害することによって、任意の哺乳動物に由来するIL-17のシグナリング活性を阻害し得る。哺乳動物としては、例えば、霊長類（例、ヒト、サル）、げっ歯類（例、マウス、ラット、モルモット）、並びにペット、家畜及び使役動物（例、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ヤギ、ヒツジ、ブタ）が挙げられる。

[0046] IL-17シグナリング活性を阻害するとは、IL-17が保有する任意のシグナリング活性に対する阻害能を意味する。例えば、IL-17はIL-17受容体に結合した後、TRAF6などを介してNF- κ B経路やMAPキナーゼ経路を活性化することが知られており、これらシグナル伝達経路を介して各種サイトカインやケモカインの産生が誘導される。従って、IL-17シグナリング阻害活性とは、IL-17シグナル伝達経路の下流に存在する、これらのサイトカインやケモカインなどの産生を阻害する活性のことである。これらサイトカインやケモカインの発現は炎症性細胞の遊走や活性化を導くので、IL-17のシグナリング阻害活性とはそれらの活性の阻害をも意味する。

[0047] IL-17シグナリング阻害活性は、例えば以下の試験により評価できる。

培養細胞を用いた試験では、培養細胞においてIL-17とTNF α の細胞刺激により放出されるIL-6量を測定することにより行う。

ヒトIL-17と各アプタマーを37°Cで30分間プレインキュベートし、マウスTNF α とともにNIH3T3細胞に加える。次いで、24時間インキュベートした後、培養上清を回収し、ELISA法によってIL-6の産生量を測定し、IC₅₀を算出する。

マウス空気嚢炎症モデルを用いた試験では、測定は以下のように行う。

雄性マウスC57BL/6Jマウスの背部皮下に2日おきに空気を2.5 mL注入し、3日後アプタマーを腹腔内投与する。1時間後に空気嚢内にIL-17 (0.5 μ g) を含む2%カルボキシメチルセルロース水溶液を投与し

、その24時間後に空気嚢内の滲出液を回収し、滲出液中のIL-6量をELISAで測定する（例えば、*Biochemical Pharmacology* 77, 878-887 (2009)）。

コラーゲン関節炎モデルマウスを用いた試験では、測定は以下のように行う。

雄性DBA/1マウスの尾根部に完全アジュバントで乳化したウシII型コラーゲンを皮内投与し、22日後に不完全アジュバントで乳化したウシI型コラーゲンで追加免疫するとともに、アプタマーを2日に1回、腹腔内投与する。毎日動物を観察し、各肢の炎症の程度を0（無症状）から4（肢全体の発赤と最大の腫脹）までの5段階でスコア化し、本発明のアプタマーの関節炎に対する薬効を評価する（例えば、*Arthritis Research Ther* 12, R92 (2010)）。

いずれも数値が低い程、該アプタマーはIL-17シグナリング活性を強く阻害すると判定する。

[0048] 本明細書において、ヌクレオチドが非修飾であるとは、リボヌクレオチドのリボースの2'位のヒドロキシル基、又はデオキシリボヌクレオチドのリボースの2'位の水素が、他の元素で置換されていないことをいい、ヌクレオチドが修飾されているとは、例えば、リボヌクレオチドのリボースの2'位のヒドロキシル基が、フッ素原子、又はO-メチル基で置き換えられていること、ヌクレオチドがホスホロチオエート化されていること、或いはLocked Nucleic Acid (LNA) 修飾されていることなどを意味する。「ヌクレオチドがホスホロチオエート化されている」とは、隣接するヌクレオチド間の結合部位にあるリン酸基が硫黄化されている、すなわち、ホスホジエステル結合がホスホロチオエート結合に改変されていることを示し、LNA修飾されているとは、ヌクレオチドのリボースの2'位の酸素原子と4'位の炭素原子間がメチレン架橋されていることを示す。

式(1a)～(1d)、(1a')、(1a''')、(1a'')及び(11a)～(11c)に示すような各種の修飾は、自体公知の方法により行うこ

とができる(例えば、Sproat et al., (1991), Nucl. Acid. Res. 19, 733-738; Cotton et al., (1991), Nucl. Acid. Res. 19, 2629-2635; Hobbs et al., (1973), Biochemistry 12, 5138-5145など参照)。

[0049] Zはまた、上記式(1a)~(1d)、(1a')、(1a''')、(1a''')及び(11a)~(11c)で表される配列の5'末端に、リボヌクレオチドの場合にはリボースの2'位のヒドロキシル基がO-メチル基で置き換えられていてもよい、塩基がグアニン又はウラシルであるヌクレオチドが付加され、及び/又は3'末端に塩基がシトシン又はアデニンであるヌクレオチドが付加された配列を含むアプタマーであってもよい。

[0050] 好ましくは、該アプタマーは、以下に示すアプタマー番号1~104のいずれかから選択される配列を含むアプタマーであってもよく、或いは、IL-17に結合し、IL-17とIL-17受容体との結合を阻害する限り、当該アプタマーの複数の連結物であってもよい。

[0051] 上記アプタマーの複数の連結物において、連結はタンデム結合にて行われ得る。また、連結に際し、リンカーを利用してもよい。リンカーとしては、ヌクレオチド鎖(例、1~約20ヌクレオチド)、非ヌクレオチド鎖(例、 $-(CH_2)_n$ -リンカー、 $-(CH_2CH_2O)_n$ -リンカー、ヘキサエチレングリコールリンカー、TEGリンカー、ペプチドを含むリンカー、 $-S-S-$ 結合を含むリンカー、 $-CONH-$ 結合を含むリンカー、 $-OPO_3-$ 結合を含むリンカー)が挙げられる。上記複数の連結物における複数とは、2以上であれば特に限定されないが、例えば、2個、3個又は4個であり得る。

[0052] また上記アプタマーの複数の連結物のタンデム結合において、アプタマー長の伸長を主たる目的として、スペーサーを用いてもよい。スペーサーとしては、多くはアプタマーの結合活性に直接関与しないと考えられる構造が使用されるが、ここではヌクレオチド鎖(例、1~約20ヌクレオチド)、非ヌクレオチド鎖(例、 $-OP(=O)(O^-)O(CH_2)_3-$ スペーサー、そ

の他の $-OPO_3-$ 結合を含むスペーサー等)が挙げられる。上記複数の連結物における複数とは、リンカー同様、2以上であれば特に限定されないが、例えば、2個、3個又は4個であり得る。

[0053] 上記のリンカー及びスペーサーは、アプタマーの複数の連結物のタンデム結合に限らず、本発明の化合物の構造に含めることができる。

[0054] アプタマーの長さは特に限定されず、通常、約200ヌクレオチド以下であり得るが、総ヌクレオチド数が少なければ、化学合成及び大量生産がより容易であり、かつコスト面でのメリットも大きい。また、化学修飾も容易であり、生体内安定性も高いと考えられる。従って、医薬品用途への適用の観点からすれば、アプタマーは70ヌクレオチドよりもさらに短い塩基長であることがより望ましく、好ましくは約50ヌクレオチド以下であり、より好ましくは約40ヌクレオチド以下(例、40ヌクレオチド以下、39ヌクレオチド以下、38ヌクレオチド以下、37ヌクレオチド以下、36ヌクレオチド以下)であり、最も好ましくは約35ヌクレオチド以下(例、35ヌクレオチド以下、34ヌクレオチド以下、33ヌクレオチド以下)であり得る。

[0055] 本発明の化合物は、IL-17に対する結合性、IL-17とIL-17受容体との結合阻害活性、安定性等を高めるために、核酸塩基がさらに改変(例、化学的置換)されたものであってもよい。このような改変としては、キャッピングのような3'末端及び/又は5'末端の改変が含まれる。

[0056] 改変はさらに、ポリエチレングリコール、アミノ酸、ペプチド、*inverted dT*、核酸、ヌクレオシド、ポリヌクレオチド、*Myristoyl*、*Lithocolic-oleyl*、*Docosanyl*、*Lauroyl*、*Stearoyl*、*Palmitoyl*、*Oleoyl*、*Linoleoyl*、その他の脂質、ステロイド、コレステロール、カフェイン、ビタミン、色素、蛍光物質、抗癌剤、毒素、酵素、放射性物質、ビオチン、リンカー各種などを3'末端及び/又は5'末端に付加することにより行われ得る。このような改変については、例えば、米国特許第5,660,985

号、同第5, 756, 703号を参照のこと。

[0057] PEGとアプタマーのリンカー、スペーサーおよびブランチャーとしては特に限定されず、炭素鎖数や官能基などを結合部位やPEGの種類などに応じて適宜選択することができる。このようなリンカーとしては、例えばアミノ基を有するリンカーやスルフヒドリル基を有するリンカーが挙げられ、具体的には、TFA Amino C-6 Icaa CPG (ChemGenes) やThiol Modifier Hexyl CED Phosphoramidite (ChemGenes) などが例示される。アミノ基を有するリンカーを選択した場合、PEGには、例えばN-hydroxysuccinimideの活性基を付加した上で、これをリンカー側のアミノ基と反応させることで、アプタマーとPEGとをリンカーを介して結合することができる。あるいは、スルフヒドリル基を有するリンカーを選択した場合、PEGにはMaleimideの活性基を付加しておけばPEGとリンカーを容易に結合することが出来る。またブランチャーとしては、Symmetrical-branching Phosphoramidite (ChemGenes) などが例示される。

[0058] なおPEGやリンカー、スペーサーおよびブランチャーとしては、市販のものを好ましく用いることができる。また、PEG、リンカー、スペーサー、ブランチャーおよびアプタマーの結合に関する反応条件などは、当業者であれば適宜設定することが可能である。

[0059] Zが示すアプタマーの好適な具体的として、以下の配列を含むアプタマー番号1~104を挙げることができる。アプタマー番号1~104において、好ましくは、3'末端にidT (inverted deoxy thymidine) が付加されている。各配列の先頭は5'末端であり、終端が3'末端である。なお、a、g、c、uは、それぞれ、塩基がアデニン、グアニン、シトシン及びウラシルであるリボヌクレオチドを示し、A、G、C、U、Tは、それぞれ、塩基がアデニン、グアニン、シトシン、ウラシル及びチミンであるデオキシリボヌクレオチドを示し、mcは、塩基がメチルシ

トシンであるリボヌクレオチドを示す。ヌクレオチドにおける括弧は、そのヌクレオチドの修飾を示し、(M)は、ヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、そのリボースの2'位のヒドロキシル基がO-メチル基で置き換えられていることを、(F)は、ヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、そのリボースの2'位のヒドロキシル基がフッ素原子で置き換えられていることを示す。(S)は、ヌクレオチドがホスホロチオエート化されていることを示し、(L)は、LNA修飾されていることを示す。例えば、c(F)は、リボースの2'位のヒドロキシル基がフッ素原子で置き換えられたシチジンを示し、a(M)はリボースの2'位がO-メチル基で置き換えられたアデノシンを示し、g(M)はリボースの2'位がO-メチル基で置き換えられたグアノシンを示す(以下、同様に記載する)。

[0060] アプタマー番号1:

g(L) g(L) g(L) u(F) a g(S) c(F) c(F) g(S) g
a g g a g u(F) c(F) a g u(F) a a u(F) c(F) g g u(F)
) a m c(L) m c(L) m c(L) (配列番号1)

[0061] アプタマー番号2:

g(M) g(M) g(M) u(F) a g(S) c(F) c(F) G g(M)
a g g a g u(F) c(F) a g u(F) a a u(F) c(F) g g u(F)
) a C C C (配列番号2)

[0062] アプタマー番号3:

g(M) g(M) g(M) u(M) a(M) g c(M) c(M) G g(M)
a(F) g g(M) a(M) g u(F) c(F) a(F) g u(F) a(M)
) a(M) u(M) c(M) g(M) g(M) u(F) A C C C (配列番号
3)

[0063] アプタマー番号4:

g(M) g(M) g(M) u(M) A g(S) c(M) c(M) G g(M)
a(F) g g(M) a(M) g u(F) c(F) a(F) g u(F) a(M)
) a(M) u(M) c(M) g(M) g(M) u(F) a(M) C C C (配

列番号4)

[0064] アプタマー番号5 :

g (M) g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g (M) a (F) g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a (M) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) A C C C C (配列番号5)

[0065] アプタマー番号6 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g (M) A g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a (M) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) A C C C (配列番号6)

[0066] アプタマー番号7 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M) a (F) g g (M) a (M) g u (F) c (F) a (F) g u (F) a a u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) C C C (配列番号7)

[0067] アプタマー番号8 (実施例配列1) :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M) a (F) g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a a u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) C C C (配列番号8)

[0068] アプタマー番号9 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M) a (F) g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a (M) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) C C C (配列番号9)

[0069] アプタマー番号10 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g (M) a (F) g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a (M) A u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) A C C C (配列番号10)

[0070] アプタマー番号11 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M)

a (F) g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a (M) A u (M)
c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) C C C (配列番号 1 1)

[0071] アプタマー番号 1 2 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) G g (M) a (F)
) g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a (M) a (M) u (M)
c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) C C C (配列番号 1 2)

[0072] アプタマー番号 1 3 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) G g (M) a (F)
) g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a (M) A u (M) c (M)
) g (M) g (M) u (F) a (M) C C C (配列番号 1 3)

[0073] アプタマー番号 1 4 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (F) c (M) c (M) G g (M)
a (F) g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a (M) a (M) u
(M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) C C C (配列番号 1 4)

[0074] アプタマー番号 1 5 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (F) c (M) c (M) G g (M)
a (F) g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a (M) A u (M)
c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) C C C (配列番号 1 5)

[0075] アプタマー番号 1 6 :

g (M) g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G
g (M) a (F) g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a (M) a
(M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) C C C C (配列
番号 1 6)

[0076] アプタマー番号 1 7 :

g (M) g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G
g (M) a (F) g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a (M) A
u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) C C C C (配列番号 1
7)

[0077] アプタマー番号18:

g (M) g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G
g (M) a (F) g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a a u (M
) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) C C C C (配列番号18)

[0078] アプタマー番号19:

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M)
A g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a (M) a (M) u (M)
c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) C C C (配列番号19)

[0079] アプタマー番号20:

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M)
A g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a (M) A u (M) c (M
) g (M) g (M) u (F) a (M) C C C (配列番号20)

[0080] アプタマー番号21:

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) g g (M)
A g g (M) a (M) g T c (F) a g T a a u (M) c (M) g (M) g
(M) T a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号21)

[0081] アプタマー番号22:

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) g g (M) A g g
(M) a (M) g T c (F) a g T a a u (M) c (M) g (M) g (M)
T a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号22)

[0082] アプタマー番号23:

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) g g (M)
A g g (M) a (M) g T c (F) a g T a a u (M) c (M) g (M) g
(M) T A c (M) c (M) c (M) (配列番号23)

[0083] アプタマー番号24:

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) g g (M) A g g
(M) a (M) g T c (F) a g T a a u (M) c (M) g (M) g (M)
T A c (M) c (M) c (M) (配列番号24)

[0084] アプタマー番号25 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) g g (M) A g g
(M) a (M) g T c (F) a g T a (M) A u (M) c (M) g (M) g
(M) T A c (M) c (M) c (M) (配列番号25)

[0085] アプタマー番号26 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M)
A g g (M) a (M) g T c (F) a g T a a u (M) c (M) g (M) g
(M) T a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号26)

[0086] アプタマー番号27 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M)
A g g (M) a (M) g T c (F) a g T a (M) A u (M) c (M) g (M)
(M) g (M) T a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号27)

[0087] アプタマー番号28 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) G g (M) A g g
(M) a (M) g T c (F) a g T a a u (M) c (M) g (M) g (M)
T a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号28)

[0088] アプタマー番号29 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) G g (M) A g g
(M) a (M) g T c (F) a g T a (M) a (M) u (M) c (M) g (M)
(M) g (M) T a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号29)

[0089] アプタマー番号30 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) G g (M) A g g
(M) a (M) g T c (F) a g T a (M) A u (M) c (M) g (M) g
(M) T a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号30)

[0090] アプタマー番号31 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M)
A g g (M) a (M) g T c (F) a g T a a u (M) c (M) g (M) g
(M) T A c (M) c (M) c (M) (配列番号31)

[0091] アプタマー番号32 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) g g (M) A g g
(M) a (M) g T c (F) a g T a (M) a (M) u (M) c (M) g (M)
g (M) T A C C C (配列番号32)

[0092] アプタマー番号33 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) g g (M) A g g
(M) a (M) g T c (F) a g T a (M) A u (M) c (M) g (M) g
(M) T A C C C (配列番号33)

[0093] アプタマー番号34 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) G g (M) A g g
(M) a (M) g T c (F) A g T a (M) a (M) u (M) c (M) g (M)
g (M) T a (M) c (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号34)

[0094] アプタマー番号35 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) G g (M) A g g
(M) a (M) g T c (F) A g T a (M) A u (M) c (M) g (M) g
(M) T a (M) c (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号35)

[0095] アプタマー番号36 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A G c (M) c (M) G g (M) A g g
(M) a (M) g T c (F) a g T a (M) A u (M) c (M) g (M) g
(M) T a (M) c (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号36)

[0096] アプタマー番号37 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) G g (M) A g g
(M) a (M) g T c (F) a g T a A u (M) c (M) g (M) g (M)
T a (M) c (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号37)

[0097] アプタマー番号38 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) G g (M) A g g
(M) a (M) g T c (F) a g T a (M) a u (M) c (M) g (M) g
(M) T a (M) c (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号38)

[0098] アプタマー番号39 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) G g (M) A g g
(M) a (M) g T c (F) A g T a a (M) u (M) c (M) g (M) g
(M) T a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号39)

[0099] アプタマー番号40 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) G g (M) A g g
(M) a (M) g T c (F) A g T a (M) a u (M) c (M) g (M) g
(M) T a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号40)

[0100] アプタマー番号41 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) G g (M) a g g
(M) a (M) g T c (F) a g T a a u (M) c (M) g (M) g (M)
T a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号41)

[0101] アプタマー番号42 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) G g (M) a g g
(M) a (M) g T c (F) a g T a A u (M) c (M) g (M) g (M)
T a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号42)

[0102] アプタマー番号43 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) G g (M) a g g
(M) a (M) g T c (F) a g T a (M) a u (M) c (M) g (M) g
(M) T a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号43)

[0103] アプタマー番号44 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) G g (M) a g g
(M) a (M) g T c (F) A g T a (M) a u (M) c (M) g (M) g
(M) T a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号44)

[0104] アプタマー番号45 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M)
a g g (M) a (M) g T c (F) a g T a a u (M) c (M) g (M) g
(M) u (F) a (M) C C C (配列番号45)

[0105] アプタマー番号46 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M)
A g g (M) a (M) g T c (F) a g T a a u (M) c (M) g (M) g
(M) u (F) a (M) C C C (配列番号46)

[0106] アプタマー番号47 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) G g (M) a (F
) g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a a u (M) c (M) g (M)
g (M) u (F) a (M) C C C (配列番号47)

[0107] アプタマー番号48 (実施例配列2) :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) G g (M) a g g
(M) a (M) g T c (F) a g T a a u (M) c (M) g (M) g (M)
u (F) a (M) C C C (配列番号48)

[0108] アプタマー番号49 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) G g (M) A g g
(M) a (M) g T c (F) a g T a a u (M) c (M) g (M) g (M)
u (F) a (M) C C C (配列番号49)

[0109] アプタマー番号50 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M)
a (F) g g (M) a (M) g (S) T c (F) a (F) g T a (M) a (M)
u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) C C C (配列番号
50)

[0110] アプタマー番号51 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M)
a (F) g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g (S) T a (M) a (M)
u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) C C C (配列番号
51)

[0111] アプタマー番号52 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M)

a (F) g g (M) a (M) g U c (F) a (F) g U a (M) a (M) u
(M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) C C C (配列番号52)

[0112] アプタマー番号53 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M)
a (F) g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T g a u (M) c (M)
) g (M) g (M) u (F) a (M) C C C (配列番号53)

[0113] アプタマー番号54 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M)
a (F) g g (M) a (M) g (S) T c (F) a (F) g (S) T a (M)
) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) C C C (配
列番号54)

[0114] アプタマー番号55 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M)
a (F) g g (M) a (M) g (S) T c (F) a (F) g (M) T a (M)
) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) C C C (配
列番号55)

[0115] アプタマー番号56 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M)
a (F) g (S) g (M) a (M) g (S) T c (F) a (F) g (M) T
a (M) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) C C
C (配列番号56)

[0116] アプタマー番号57 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M)
a (F) g g (M) a (M) g (S) T c (F) a (F) g (M) T a (M)
) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) c (M) c
(M) c (M) (配列番号57)

[0117] アプタマー番号58 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g

(M) a (F) g g (M) a (M) g (S) T c (F) a (F) g (M) T
 a (M) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) c (M)
 c (M) c (M) (配列番号58)

[0118] アプタマー番号59 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M)
 a (M) g g (M) a (M) g (S) T c (F) a (F) g (M) T a (M)
) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) CCC (配
 列番号59)

[0119] アプタマー番号60 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g
 (M) a (F) g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a (M) a (M)
 u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) c (M) c (M)
 c (M) (配列番号60)

[0120] アプタマー番号61 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g
 (M) a (F) g g (M) a (M) g (S) T c (F) a (F) g (S) T
 a (M) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) c (M)
 c (M) c (M) (配列番号61)

[0121] アプタマー番号62 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g
 (M) a (F) g g (M) a (M) g (S) T c (M) a (F) g (S) T
 a (M) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) c (M)
 c (M) c (M) (配列番号62)

[0122] アプタマー番号63 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g
 (M) a (F) g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a (M) a (M)
 u (M) c (M) g (M) g (M) u (M) a (M) c (M) c (M)
 c (M) (配列番号63)

[0123] アプタマー番号64 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g
 (M) a (F) g g (M) a (M) g (S) T c (F) a (F) g (S) T
 a (M) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (M) a (M) c (M)
 c (M) c (M) (配列番号64)

[0124] アプタマー番号65 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g
 (M) a (F) g g (M) a (M) g (S) T c (M) a (F) g (S) T
 a (M) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (M) a (M) c (M)
 c (M) c (M) (配列番号65)

[0125] アプタマー番号66 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g
 (M) a (F) g g (M) a (M) g (S) u (F) c (F) a (F) g (S)
 u (F) a (M) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F)
 A c (M) c (M) c (M) (配列番号66)

[0126] アプタマー番号67 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g
 (M) a (F) g g (M) a (M) g u (F) c (F) a (F) g u (F)
 a (M) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) c (M)
 c (M) c (M) (配列番号67)

[0127] アプタマー番号68 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g
 (M) a (F) g g (M) a (M) g (S) u (F) c (F) a (F) g (S)
 u (F) a (M) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F)
 a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号68)

[0128] アプタマー番号69 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g
 (M) a (F) g g (M) a (M) g (S) u (F) c (M) a (F) g (S)

S) u (F) a (M) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F)
a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号69)

[0129] アプタマー番号70:

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) Gg
(M) a (F) gg (M) a (M) gu (F) c (F) a (F) gu (F)
a (M) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (M) a (M) c (M)
c (M) c (M) (配列番号70)

[0130] アプタマー番号71:

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) Gg
(M) a (F) gg (M) a (M) g (S) u (F) c (F) a (F) g (S)
u (F) a (M) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (M)
a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号71)

[0131] アプタマー番号72:

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g c (M) c (M) Gg (M)
a (F) gg (M) a (M) gTc (F) a (F) gTa (M) a (M) u
(M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) c (M) c (M) c (M)
) (配列番号72)

[0132] アプタマー番号73:

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g c (M) c (M) gg (M)
a (F) gg (M) a (M) gTc (F) a (F) gTa (M) a (M) u
(M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) c (M) c (M) c (M)
) (配列番号73)

[0133] アプタマー番号74:

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g c (M) c (M) Gg (M)
a (F) gg (M) a (M) gu (F) c (F) a (F) gu (F) a (M)
) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) Ac (M) c (M)
c (M) (配列番号74)

[0134] アプタマー番号75:

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g c (M) c (M) g g (M)
 a (F) g g (M) a (M) g u (F) c (F) a (F) g u (F) a (M
) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) A c (M) c (M)
 c (M) (配列番号75)

[0135] アプタマー番号76 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g c (M) c (M) G g (M)
 a (F) g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a (M) a (M) u
 (M) c (M) g (M) g (M) u (M) a (M) c (M) c (M) c (M
) (配列番号76)

[0136] アプタマー番号77 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g c (M) c (M) g g (M)
 a (F) g g (M) a (M) g u (F) c (F) a (F) g u (F) a (M
) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (M) a (M) c (M) c
 (M) c (M) (配列番号77)

[0137] アプタマー番号78 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g
 (M) a (F) g g (M) a (M) g u (F) c (F) a (F) g u (F)
 a (M) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) A c (M) c
 (M) c (M) (配列番号78)

[0138] アプタマー番号79 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g
 (M) a (M) g g (M) a (M) g (S) T c (M) a (F) g (S) T
 a (M) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (M) a (M) c (M
) c (M) c (M) (配列番号79)

[0139] アプタマー番号80 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g
 (M) a (M) g g (M) a (M) g (S) T c (F) a (F) g (S) T
 a (M) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (M) a (M) c (M
) c (M) c (M) (配列番号80)

M) c (M) c (M) (配列番号80)

[0140] アプタマー番号81 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g
 (M) a (M) g g (M) a (M) g (S) u (F) c (M) a (F) g (S)
 u (F) a (M) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F)
 a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号81)

[0141] アプタマー番号82 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g
 (M) a (M) g g (M) a (M) g (S) u (F) c (F) a (F) g (S)
 u (F) a (M) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (M)
 a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号82)

[0142] アプタマー番号83 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g
 (M) a (M) g g (M) a (M) g (S) u (F) c (F) a (F) g (S)
 u (F) a (M) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F)
 a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号83)

[0143] アプタマー番号84 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g
 (M) a (M) g g (M) a (M) g (S) T c (M) a (F) g (S) T
 g (M) a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (M) a (M) c (M)
 c (M) c (M) c (M) (配列番号84)

[0144] アプタマー番号85 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g
 (M) a (M) g g (M) a (M) g (S) T c (M) a (F) g (S) T
 g a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (M) a (M) c (M) c
 (M) c (M) (配列番号85)

[0145] アプタマー番号86 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g

(M) a (M) g g (M) a (M) g (S) u (F) c (M) a (F) g (S) u (F) g a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号86)

[0146] アプタマー番号87 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g (M) a (M) g g (M) a (M) g (S) T c (M) a (F) g (S) T a a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (M) a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号87)

[0147] アプタマー番号88 (実施例配列3) :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g (M) a (M) g g (M) a (M) g (S) T c (M) a (F) g (S) T a (M) a u (M) c (M) g (M) g (M) u (M) a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号88)

[0148] アプタマー番号89 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g (M) a (M) g g (M) a (M) g (S) T c (M) a (F) g (S) T a a u (M) c (M) g (M) g (M) u (M) a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号89)

[0149] アプタマー番号90 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g (M) a (M) g g (M) a (M) g (S) u (F) c (F) a (F) g (S) u (F) a a (M) u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号90)

[0150] アプタマー番号91 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g (M) a (M) g g (M) a (M) g (S) u (F) c (F) a (F) g (S) u (F) a (M) a u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号91)

[0151] アプタマー番号92 :

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g
 (M) a (M) g g (M) a (M) g (S) u (F) c (F) a (F) g (S)
 u (F) a a u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) c (M)
 c (M) c (M) (配列番号92)

[0152] アプタマー番号93 :

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M)
 a (F) g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a a u (M) c (M)
) g (M) g (M) u (F) a (M) c (M) c (M) c (M) (配列番号
 93)

[0153] アプタマー番号94 :

g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M) a (F)
 g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a a u (M) c (M) g (M)
) g (M) u (F) a (M) C C (配列番号94)

[0154] アプタマー番号95 :

g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M) a (F) g g (M)
) a (M) g T c (F) a (F) g T a a u (M) c (M) g (M) g (M)
) u (F) a (M) C (配列番号95)

[0155] アプタマー番号96 :

u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M) a (F) g g (M) a (M)
) g T c (F) a (F) g T a a u (M) c (M) g (M) g (M) u (F)
) a (M) (配列番号96)

[0156] アプタマー番号97 :

g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) G g (M) a g g (M) a
 (M) g T c (F) a g T a a u (M) c (M) g (M) g (M) u (F)
 a (M) C C (配列番号97)

[0157] アプタマー番号98 :

g (M) u (M) A g c (M) c (M) G g (M) a g g (M) a (M) g

T c (F) a g T a a u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M)
C (配列番号 98)

[0158] アプタマー番号 99 :

u (M) A g c (M) c (M) G g (M) a g g (M) a (M) g T c (F)
) a g T a a u (M) c (M) g (M) g (M) u (F) a (M) (配列番
号 99)

[0159] アプタマー番号 100 :

g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g (M) a
(M) g g (M) a (M) g (S) T c (M) a (F) g (S) T a (M)
a u (M) c (M) g (M) g (M) u (M) a (M) c (M) c (M) (配
列番号 100)

[0160] アプタマー番号 101 :

g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g (M) a (M) g
g (M) a (M) g (S) T c (M) a (F) g (S) T a (M) a u (M)
) c (M) g (M) g (M) u (M) a (M) c (M) (配列番号 101)

[0161] アプタマー番号 102 :

u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g (M) a (M) g g (M)
a (M) g (S) T c (M) a (F) g (S) T a (M) a u (M) c (M)
) g (M) g (M) u (M) a (M) (配列番号 102)

[0162] アプタマー番号 103 :

g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M) a (F)
g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a a u (M) c (M) g (M)
) g (M) u (F) a (M) c (M) c (M) (配列番号 103)

[0163] アプタマー番号 104 :

g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M) a (F) g g (M)
) a (M) g T c (F) a (F) g T a a u (M) c (M) g (M) g (M)
) u (F) a (M) c (M) (配列番号 104)

[0164] 本発明の化合物において、製薬学的に許容される塩としては、すべての塩

が含まれるが、塩酸または臭化水素酸などの無機酸との塩、有機酸との塩、アルカリ金属との塩、有機塩基との塩またはアミノ酸との塩が挙げられる。

[0165] 本発明の化合物が溶媒和物の形態で提供される場合、溶媒としては、生理学的に許容される有機溶媒、例えば、エタノール、アセトン、酢酸エチル等が挙げられる。

[0166] 本発明の化合物は、本明細書中の開示及び当該技術分野における自体公知の方法により化学合成することができる。具体的には、本発明の化合物は、例えば以下の手順に従って合成することができる。即ち、先ず、市販のオリゴヌクレオチド合成装置（ABI社製など）を用いてホスホロアミダイト法（Nucleic Acids Research, 17, 7059-7071, 1989）等の周知のオリゴヌクレオチド合成法により3'末端から5'末端の方向にアプタマー（Z）を合成する。次いで、上記と同様に自動合成装置を用いて、アプタマーの5'末端にリン酸ジエステル結合を介してブランチャーを導入、あるいは上述したようなスペーサー（W）を付加した後に、ブランチャーを導入する。ブランチャーとなる合成用ホスホロアミダイトは、公知の方法により上記式（1）の L_1 、 L_2 、及び q を様々に選択して合成可能である。例えば、 L_1 及び L_2 が2、 q が0の場合は、特表2010-512421に記載された方法に従い、また L_1 及び L_2 が1、 q が1の場合は、特表2006-513244に記載された方法に従い、それぞれ合成できる。同様に、 L_1 及び L_2 が1、 q が0の場合は、文献（Chemistry A European Journal, 20, 12165-12171, 2014、Bioorganic and Medicinal Chemistry, 18, 8277-8282, 2010）に記載の方法の他に、Symmetrical branching CED phosphoramidite（ChemGenes社製）などの市販のものを用いることができる。スペーサー（W）、ブランチャーはアプタマー1当量に対して通常1～9当量程度を使用する。このブランチャーの付加に引き続いて、アプタマー1当量に対して通常2～14当量程度のスペーサー（Y）を用いて、同様に自動合成装置を用いてリン酸ジエステル結合を介して上述したようなスペーサーの付加を行う。更に、アプタマー1当量に対して通常2～

1.4 当量程度のリンカー（X）を用いて、同様に自動合成装置を用いてリン酸ジエステル結合を介して上述したようなリンカーの付加を行う。リンカーまで付加した後、合成した化合物をアンモニア水溶液などを用いて担体から切り離し、塩基部分及びリン酸基部分の脱保護を行う。次いで、逆相クロマトグラフィーやイオン交換クロマトグラフィー等により化合物を精製し、5' アミノ化オリゴヌクレオチドあるいは5'メルカプト化オリゴヌクレオチド（安定化の為にジスルフィドの形態であっても良い）を得る。その後、得られた5'アミノ化オリゴヌクレオチドあるいは5'メルカプトオリゴヌクレオチド（反応に際しジスルフィドを還元しても良い）を、上述したようなN-ヒドロキシスクシンイミド（NHS）で活性化した分岐PEGあるいはメルカプト基が容易に反応するマレイミドを持つ分岐PEGと適当な溶液（例、リン酸緩衝液や炭酸ナトリウム緩衝液 pH 6.5~9.0、4~25℃）中で例えば2~4時間程度反応させることにより、各リンカーの5'末端に分岐PEGを付加させることができる。反応後、液体クロマトグラフィーなどにより精製することで本発明の化合物を得ることができる。

[0167] 本発明の化合物において、Zが示すアダプターは、それに結合した1以上（例、2又は3個）の機能性物質を更に含んでもよい。結合は、共有結合又は非共有結合であり得る。機能性物質は、本発明の化合物に何らかの機能を新たに付加するもの、或いは本発明の化合物が保持し得る何らかの特性を変化（例、向上）させ得るものである限り特に限定されない。機能性物質としては、例えば、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、脂質、糖質、単糖、ポリヌクレオチド、ヌクレオチドが挙げられる。機能性物質としてはまた、例えば、親和性物質（例、ビオチン、ストレプトアビジン、標的相補配列に対して親和性を有するポリヌクレオチド、抗体、グルタチオンセファロース、ヒスチジン）、標識用物質（例、蛍光物質、発光物質、放射性同位体）、酵素（例、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ）、薬物送達媒体（例、リポソーム、ミクロスフェア、ペプチド、ポリエチレングリコール類）、薬物（例、カリケアマイシンやデュオカルマイシンなどミサイ

ル療法に使用されているもの、イブプロフェンなど血液成分に結合して血中の半減期を延長させるために使用されるもの、シクロフォスファミド、メルファラン、イホスファミド又はトロホスファミドなどのナイトロジェンマスタード類似体、チオテパなどのエチレンイミン類、カルムスチンなどのニトロソ尿素、テモゾロミド又はダカルバジンなどのアルキル化剤、メトトレキサート又はラルチトレキセドなどの葉酸類似代謝拮抗剤、チオグアニン、クラドリビン又はフルダラビンなどのプリン類似体、フルオロウラシル、テガフルール又はゲムシタビンなどのピリミジン類似体、ビンブラスチン、ビンクリスチン又はビンオレルビンなどのビンカアルカロイド及びその類似体、エトポシド、タキサン、ドセタキセル又はパクリタキセルなどのポドフィロトキシン誘導体、ドキシソルビシン、エピルビシン、イダルビシン及びミトキサントロンなどのアントラサイクリン類及び類似体、ブレオマイシン及びミトマイシンなどの他の細胞毒性抗生物質、シスプラチン、カルボプラチン及びオキサリプラチンなどの白金化合物、ペントスタチン、ミルテフォシン、エストラムスチン、トポテカン、イリノテカン及びビカルタミド)、毒素(例、リシン毒素、ジフテリア毒素及びベロ毒素)が挙げられる。これらの機能性分子は最終的に取り除かれる場合がある。更に、トロンビンやマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)、Factor Xなどの酵素が認識して切断することができるペプチド、ヌクレアーゼや制限酵素が切断できるポリヌクレオチドであってもよい。

[0168] 本発明の化合物は、従来のアプタマーと比べて動物体内での血中滞留性に優れている。具体的には例えば、本発明の化合物は、上述したような対象動物の体内において、10時間以上、好ましくは15時間以上、より好ましくは20時間以上の血中半減期を有し得る。あるいは、本発明の化合物は、(i) ブランチャーを有しない、PEGの分岐の様式及びPEG総分子量が等しい、同一配列のアプタマー、又は(ii) ブランチャーを有し、PEG総分子量が等しいが、PEGは分岐を有しない、同一配列のアプタマーと比較して、上述したような対象動物中での血中半減期が1.2倍以上、好ましく

は1.5倍以上、より好ましくは2倍以上であり得る。血中半減期の測定は、例えば、被験物質を生理食塩水に溶解し（例、マウスについて0.2mg/mL、サルについて1mg/mL）、それを1mg/kgで対象動物に静脈内投与してから所定の時間後に経時的に血液を採取する。血漿に分離し-70°Cで保存した後、Judith M. Healyら（Pharmaceutical Research, December 2004, Volume 21, Issue 12, pp2234-2246）の方法に従い、ELISA法（ハイブリダイゼーション法）を用いて被験物質の残存核酸濃度を測定することにより行うことができる。

[0169] 本発明の化合物は、例えば、医薬又は診断薬、検査薬、試薬として使用され得る。特に、本発明の化合物は、従来のアプタマーと比べて生体内での安定性が改善されているので、医薬、とりわけ全身投与が必要な炎症性疾患及び自己免疫疾患などの医薬（例えば、予防又は治療用医薬）として有用である。

ここで炎症性疾患及び自己免疫疾患などとしては、多発性硬化症（MS）、全身性エリトマトーデス（SLE）、強直性脊椎炎（AS）、シェーグレン症候群、多発性筋炎（PM）、皮膚筋炎（DM）、関節リウマチ（RA）、変形性関節症（OA）、炎症性腸疾患（クローン病、潰瘍性大腸菌など）、全身性硬化症（SSc）、強皮症、結節性動脈周囲炎（PN）、甲状腺疾患（バセドウ病、橋本病など）、ギラン・バレー症候群、原発性胆汁性肝硬変（PBC）、突発性血小板減少性紫斑病、自己免疫溶血性貧血、重症筋無力症（MG）、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、I型糖尿病、尋常性乾癬、膿疱性乾癬、関節症性乾癬、乾癬性紅皮症、滴状乾癬、喘息、好中球機能異常、好酸球性肺炎、特発性肺線維症、過敏性肺炎、癌（例、食道癌、甲状腺癌、膀胱癌、大腸癌、胃癌、膵臓癌、胸部癌、肝臓癌、肺癌、非小細胞肺癌、乳癌、神経芽細胞腫、グリオブラストーマ、子宮癌、子宮頸癌、卵巣癌、ウィルムス腫瘍、前立腺癌、骨肉腫）、肥厚性瘢痕、ケロイド、移植疾患（例、拒絶反応、移植片対宿主病）、アレルギー（例、アレルギー性鼻炎、アト

ピー性皮膚炎、食物過敏症、蕁麻疹、過敏性肺臓炎）、接触性皮膚炎、ANCA関連疾患、川崎病、急性熱性皮膚粘膜リンパ節症候群（MCLS）、デュシャンヌ型筋ジストロフィー、肺気腫、肺水腫、肺結核、肺胞タンパク症、肺リンパ脈管筋腫症（LAM）、気胸、胸膜炎、術後癒着、子宮内膜症、成人性歯周炎、気管支炎、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、感染症、加齢黄斑変性症、網膜症、緑内障、白内障、ブドウ膜炎、ベーチェット病、肝炎、肝硬変、肝不全、腎梗塞、腎炎、腎不全、膀胱炎、脳梗塞、脳出血、頭蓋内出血、くも膜下出血、高血圧性脳疾患、脳塞栓症、一過性脳虚血発作、骨髄炎、化膿性関節炎、骨粗鬆症、椎間板ヘルニア、痛風、汗腺膿瘍、掌蹠膿疱症、円形脱毛症、アテローム性動脈硬化症、乾性角結膜炎（ドライアイ）などが挙げられる。

[0170] また本発明の化合物は、薬物送達剤、インビボイメージング用プローブ、IL-17の血中濃度測定用プローブ、組織染色用プローブ、ELISA用プローブ、IL-17の分離精製用リガンドとしても使用され得る。

[0171] IL-17は線維芽細胞、内皮細胞、上皮細胞、軟骨細胞、骨芽細胞、樹状細胞前駆細胞、骨髄由来間質細胞、T細胞、マクロファージ、好中球などの各種細胞に作用することが知られている。IL-17はこれらの細胞に作用することで各種サイトカイン、ケモカイン、受容体、接着分子、酵素等の産生及び発現を誘導する。具体的にはCXCL1（KC又はGro α ）、CXCL2（MIP2又はGro β ）、CXCL5（LIX）、CXCL6（GCP-2）、CXCL8（IL-8）、CXCL9（MIG）、CXCL10（IP10）、CXCL11（I-TAC）、CCL2（MCP-1）、CCL5（RANTES）、CCL7（MCP-3）、CCL11（Eotaxin）、CXCL12（SDF-1）、CCL20（MIP3 α ）、IL-1、IL-6、IL-19、TNF、CSF2（GM-CSF）、CSF3（G-CSF）、ICAM-1、VCAM-1、PTGS2（COX2）、NOS2（iNOS）、LCN2（24p3）、DEFB4（BD2）、S100A7（Psoriasin）、S100A8（Calgran

ulin A)、S100A9 (Calgranulin B)、MUC5AC、MUC5B、EREG、SOCS3、TNFSF11 (RANKL)、MMP1、MMP3、MMP9、MMP13、TIMP1、ADAMTS4、PGE2、SCF、CD80、CD86、MHCなどが挙げられる。従って、本発明の化合物は、これらの細胞及びサイトカイン、ケモカインなどに関係した疾患の医薬又は診断薬、検査薬、試薬として使用され得る。

[0172] IL-17はIL-17受容体に結合することでAct1やTRAF6を活性化し、NF- κ B経路やMAPキナーゼ経路、C/EBP経路などを活性化する。従って、本発明の化合物は、これらのシグナル伝達経路の活性化に関係した疾患の医薬又は診断薬、検査薬、試薬として使用され得る。

[0173] 本発明の医薬は、医薬上許容される担体が配合されたものであり得る。医薬上許容される担体としては、例えば、ショ糖、デンプン、マンニット、ソルビット、乳糖、グルコース、セルロース、タルク、リン酸カルシウム、炭酸カルシウム等の賦形剤、セルロース、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリプロピルピロリドン、ゼラチン、アラビアゴム、ポリエチレングリコール、ショ糖、デンプン等の結合剤、デンプン、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルスターチ、ナトリウム-グリコーラースターチ、炭酸水素ナトリウム、リン酸カルシウム、クエン酸カルシウム等の崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム、エアロジル、タルク、ラウリル硫酸ナトリウム等の滑剤、クエン酸、メントール、グリシルリシン・アンモニウム塩、グリシン、オレンジ粉等の芳香剤、安息香酸ナトリウム、亜硫酸水素ナトリウム、メチルパラベン、プロピルパラベン等の保存剤、アルギニン、ヒスチジン、リジン、クエン酸、クエン酸ナトリウム、酢酸等の安定剤、メチルセルロース、ポリビニルピロリドン、ステアリン酸アルミニウム等の懸濁剤、界面活性剤等の分散剤、水、生理食塩水、オレンジジュース等の希釈剤、カカオ脂、ポリエチレングリコール、白灯油等のベースワックスなどが挙げられるが、それらに限定されるものではない。

[0174] 経口投与に好適な製剤は、水、生理食塩水、オレンジジュースのような希

积液に有効量のリガンドを溶解させた液剤、有効量のリガンドを固体や顆粒として含んでいるカプセル剤、サッシュ剤又は錠剤、適当な分散媒中に有効量の有効成分を懸濁させた懸濁液剤、有効量の有効成分を溶解させた溶液を適当な分散媒中に分散させ乳化させた乳剤等である。

[0175] また、本発明の医薬は必要により、味のマスクング、腸溶性或いは持続性などの目的のため、自体公知の方法でコーティングすることができる。コーティングに用いられるコーティング剤としては、例えば、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリオキシエチレングリコール、ツイーン80、プルロニックF68、セルロースアセテートフタレート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、ヒドロキシメチルセルロースアセテートサクシネート、オイドラギット（ローム社製、ドイツ、メタアクリル酸・アクリル酸共重合体）及び色素（例、ベンガラ、二酸化チタンなど）などが用いられる。当該医薬は、速放性製剤、徐放性製剤のいずれであってもよい。徐放の基材としては、例えば、リポソーム、アテロコラーゲン、ゼラチン、ヒドロキシアパタイト、PLGAなどが挙げられる。

[0176] 非経口的な投与（例えば、静脈内投与、皮下投与、筋肉内投与、局所投与、腹腔内投与、経鼻投与、経肺投与、経皮投与など）に好適な製剤としては、水性及び非水性の等張な無菌の注射液剤があり、これには抗酸化剤、緩衝液、制菌剤、等張化剤等が含まれていてもよい。また、水性及び非水性の無菌の懸濁液剤が挙げられ、これには懸濁剤、可溶化剤、増粘剤、安定化剤、防腐剤等が含まれていてもよい。当該製剤は、アンプルやバイアルのように単位投与量或いは複数回投与量ずつ容器に封入することができる。また、有効成分及び医薬上許容される担体を凍結乾燥し、使用直前に適当な無菌の溶媒に溶解又は懸濁すればよい状態で保存することもできる。更に注射液剤以外にも、吸入剤、軟膏剤も可能である。吸入剤の場合、凍結乾燥状態の有効成分を微細化し適当な吸入デバイスを用いて吸入投与又はネブライザーを用いて吸入する等の方法が含まれてもよい。吸入剤には、更に必要に応じて従

来より使用されている界面活性剤、油、調味料、シクロデキストリン又はその誘導体等を適宜配合することができる。

[0177] ここで界面活性剤としては、例えばオレイン酸、レシチン、ジエチレングリコールジオレエート、テトラヒドロフルフリルオレエート、エチルオレエート、イソプロピルミリステート、グリセリルトリオレエート、グリセリルモノラウレート、グリセリルモノオレエート、グリセリルモノステアレート、グリセリルモノリシノエート、セチルアルコール、ステアリルアルコール、ポリエチレングリコール400、セチルピリジニウムクロリド、ソルビタントリオレエート（商品名スパン85）、ソルビタンモノオレエート（商品名スパン80）、ソルビタンモノラウエート（商品名スパン20）、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油（商品名HCO-60）、ポリオキシエチレン（20）ソルビタンモノラウレート（商品名ツイーン20）、ポリオキシエチレン（20）ソルビタンモノオレエート（商品名ツイーン80）、天然資源由来のレシチン（商品名エピクロン）、オレイルポリオキシエチレン（2）エーテル（商品名ブリジ92）、ステアリルポリオキシエチレン（2）エーテル（商品名ブリジ72）、ラウリルポリオキシエチレン（4）エーテル（商品名ブリジ30）、オレイルポリオキシエチレン（2）エーテル（商品名ゲナポール0-020）、オキシエチレンとオキシプロピレンとのブロック共重合体（商品名シンペロニック）等が挙げられる。油としては、例えばトウモロコシ油、オリーブ油、綿実油、ヒマワリ油等が挙げられる。また、軟膏剤の場合、適当な医薬上許容される基剤（黄色ワセリン、白色ワセリン、パラフィン、プラスチックベース、シリコン、白色軟膏、ミツロウ、豚油、植物油、親水軟膏、親水ワセリン、精製ラノリン、加水ラノリン、吸水軟膏、親水プラスチックベース、マクロゴール軟膏等）を用い、有効成分と混合し製剤化し使用する。

[0178] 吸入剤は常法に従って製造することができる。すなわち、上記本発明の化合物を粉末又は液状にして、吸入噴射剤及び／又は担体中に配合し、適当な吸入容器に充填することにより製造することができる。また上記本発明の化

合物が粉末の場合は通常の機械的粉末吸入器を、液状の場合はネブライザー等の吸入器をそれぞれ使用することもできる。ここで噴射剤としては従来公知のものを広く使用でき、フロン-11、フロン-12、フロン-21、フロン-22、フロン-113、フロン-114、フロン-123、フロン-142c、フロン-134a、フロン-227、フロン-C318、1, 1, 1, 2-テトラフルオロエタン等のフロン系化合物、プロパン、イソブタン、n-ブタン等の炭化水素類、ジエチルエーテル等のエーテル類、窒素ガス、炭酸ガス等の圧縮ガス等を例示できる。

[0179] 本発明の医薬の投与量は、有効成分の種類・活性、病気の重篤度、投与対象となる動物種、投与対象の薬物受容性、体重、年齢等によって異なるが、通常、成人1日あたり有効成分量として約0.0001~約100mg/kg、例えば約0.0001~約10mg/kg、好ましくは約0.005~約1mg/kgであり得る。

[0180] 本発明はまた、本発明の化合物が固定化された固相担体を提供する。固相担体としては、例えば、基板、樹脂、プレート（例、マルチウェルプレート）、フィルター、カートリッジ、カラム、多孔質材が挙げられる。基板は、DNAチップやプロテインチップなどに使われているものなどであり得、例えば、ニッケル-PTFE（ポリテトラフルオロエチレン）基板やガラス基板、アパタイト基板、シリコン基板、アルミナ基板などで、これらの基板にポリマーなどのコーティングを施したものが挙げられる。樹脂としては、例えば、アガロース粒子、シリカ粒子、アクリルアミドとN, N'-メチレンビスアクリルアミドの共重合体、ポリスチレン架橋ジビニルベンゼン粒子、デキストランをエピクロロヒドリンで架橋した粒子、セルロースファイバー、アシルデキストランとN, N'-メチレンビスアクリルアミドの架橋ポリマー、単分散系合成ポリマー、単分散系親水性ポリマー、セファロース、トヨパールなどが挙げられ、また、これらの樹脂に各種官能基を結合させた樹脂も含まれる。本発明の固相担体は、例えば、IL-17の精製、及びIL-17の検出、定量に有用であり得る。

[0181] 本発明の化合物は、自体公知の方法により固相担体に固定できる。例えば、親和性物質（例、上述したもの）や所定の官能基を本発明の化合物に導入し、次いで当該親和性物質や所定の官能基を利用して固相担体に固定化する方法が挙げられる。本発明はまた、このような方法を提供する。所定の官能基は、カップリング反応に供することが可能な官能基であり得、例えば、アミノ基、チオール基、ヒドロキシル基、カルボキシル基が挙げられる。本発明はまた、このような官能基が導入されたアプタマーを提供する。

[0182] 本発明はまた、IL-17の精製及び濃縮方法を提供する。特に本発明はIL-17を他のファミリータンパク質から分離することが可能である。

従って、一実施態様において、本発明は、(a) 本発明の化合物をIL-17を含むサンプルと接触させて、サンプル中のIL-17と本発明の化合物とを結合させる工程、及び(b) 本発明の化合物に結合したIL-17をサンプルから分離する工程を含む、IL-17の精製方法を提供する。

本発明の精製及び濃縮方法は、本発明の固相担体にIL-17を吸着させ、吸着したIL-17を溶出液により溶出させることを含み得る。本発明の固相担体へのIL-17の吸着は自体公知の方法により行うことができる。例えば、IL-17を含有する試料（例、細菌又は細胞の培養物又は培養上清、血液）を、本発明の固相担体又はその含有物に導入する。IL-17の溶出は、中性溶液等の溶出液を用いて行うことができる。中性溶出液は特に限定されるものではないが、例えばpH約6～約9、好ましくは約6.5～約8.5、より好ましくは約7～約8であり得る。中性溶液はまた、例えば、カリウム塩（例、KCl）、ナトリウム塩（例、NaCl）、マグネシウム塩（例、MgCl₂）、界面活性剤（例、Tween20、Triton、NP40）、グリセリンを含むものであり得る。本発明の精製及び濃縮方法はさらに、IL-17の吸着後、洗浄液を用いて固相担体を洗浄することを含み得る。洗浄液としては、例えば、尿素、キレート剤（例、EDTA）、Tris、酸、アルカリ、Transfer RNA、DNA、Tween20などの表面活性剤、NaClなどの塩を含むものなどが挙げられる。本

発明の精製及び濃縮方法はさらに、固相担体を加熱処理することを含み得る。かかる工程により、固相担体の再生、滅菌が可能である。

[0183] 本発明の化合物は、検出用プローブ、特にIL-17の検出用プローブとして利用することができる。アプタマーの標識方法としては特に限定されず、自体公知の方法が適用可能である。このような方法としては、例えば放射性同位元素による標識、蛍光色素や蛍光蛋白質による標識などが挙げられる。

[0184] 本発明はまた、IL-17の検出及び定量方法を提供する。特に本発明はIL-17を他のファミリータンパク質と区別して検出及び定量することができる。本発明の検出及び定量方法は、本発明の化合物を利用して（例、本発明の固相担体の使用により）IL-17を測定することを含み得る。

従って、一実施態様において、本発明は、（a）本発明の化合物を試験サンプルと接触させて、試験サンプル中のIL-17と本発明の化合物とを結合させる工程、及び（b）本発明の化合物と結合したIL-17を検出する工程を含む、IL-17の検出方法を提供する。

IL-17の検出及び定量方法は、抗体の代わりに本発明の化合物を用いること以外は、免疫学的方法と同様の方法により行われ得る。従って、抗体の代わりに本発明の化合物を用いることにより、酵素免疫測定法（EIA）（例、直接競合ELISA、間接競合ELISA、サンドイッチELISA）、放射免疫測定法（RIA）、蛍光免疫測定法（FIA）、ウエスタンブロット法（例、ウエスタンブロット法における二次抗体の代わりとしての使用）、免疫組織化学的染色法、セルソーティング法等の方法と同様の方法により、検出及び定量を行うことができる。このような方法は、例えば、生体又は生物学的サンプルにおけるIL-17量の測定やIL-17が関連する疾患の診断に有用であるだけでなく、抗体の代わりに本発明の化合物を用いることにより、ヒトやヒト以外の動物由来の生体サンプルを用いて、或いは生体以外のサンプルを用いて、IL-17を検出又は定量する科学的目的や、実験・研究目的など疾患診断目的以外にも有用であり得る。

[0185] 本明細書中で挙げられた特許及び特許出願明細書を含む全ての刊行物に記載された内容は、本明細書での引用により、その全てが明示されたと同程度に本明細書に組み込まれるものである。

[0186] 以下に実施例を挙げ、本発明を更に詳しく説明するが、本発明は下記実施例等に何ら制約されるものではない。

[0187] 実施例 1 : PEG-リンカー-スパーサー-ブランチャーをコンジュゲートしたアダプターの合成 (あるいは調製)

実施例のアダプターに用いた核酸配列を以下に示す。実施例配列 1~4 はいずれも先行出願である PCT/J P 2 0 1 4 / 0 5 7 9 1 9 (WO 2 0 1 4 / 1 4 8 6 3 8) の請求の範囲に含まれる配列である。

実施例配列 1 (アダプター番号 8)

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M)
a (F) g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a a u (M) c (M)
) g (M) g (M) u (F) a (M) CCC_ (t) (配列番号 8)

実施例配列 2 (アダプター番号 4 8)

g (M) g (M) g (M) u (M) A g c (M) c (M) G g (M) a g g
(M) a (M) g T c (F) a g T a a u (M) c (M) g (M) g (M)
u (F) a (M) CCC_ (t) (配列番号 4 8)

実施例配列 3 (アダプター番号 8 8)

g (M) g (M) g (M) u (M) a (M) g (S) c (M) c (M) G g
(M) a (M) g g (M) a (M) g (S) T c (M) a (F) g (S) T
a (M) a u (M) c (M) g (M) g (M) u (M) a (M) c (M) c
(M) c (M) _ (t) (配列番号 8 8)

実施例配列 4 (アダプター番号 9 3)

g (M) g (M) g (M) u (M) A g (S) c (M) c (M) G g (M)
 a (F) g g (M) a (M) g T c (F) a (F) g T a a u (M) c (M
) g (M) g (M) u (F) a (M) c (M) c (M) c (M) _ (t) (配
 列番号93)

a、g、c、uは、それぞれ、塩基がアデニン、グアニン、シトシン及び
 ウラシルであるリボヌクレオチドを示し、A、G、C、Tは、それぞれ、塩
 基がアデニン、グアニン、シトシン及びチミンであるデオキシリボヌクレオ
 チドを示す。ヌクレオチドにおける括弧は、そのヌクレオチドの修飾を示し
 、(M)は、ヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、そのリボースの2'
 位のヒドロキシル基がO-メチル基で置き換えられていることを示し、(F)
 は、ヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、そのリボースの2'位のヒド
 ロキシル基がフッ素原子で置き換えられていることを示し、(S)は、ヌク
 レオチドがホスホロチオエート化されていることを示す。_(t)は *in v
 i v o* 試験の際、3'末端又は5'末端に付加した *i d T (i n v e r t e d
 d e o x y t h y m i d i n e)* を示す。3'末端に *i d T* を付加した場合
 には、配列の先頭は5'末端であり、終端が3'末端である。

[0188] 各アプタマーは、オリゴヌクレオチド自動合成装置を使用して、ホスホロ
 アミダイト法を用いた固相法により合成した。

各核酸配列の3'末端側に位置するヌクレオチドを出発材料とし、最初の仕
 込み量として合成開始点での量が150 μmol になるように当該ヌクレオ
 チドを合成用担体上に担持し、合成用カラムに詰め、自動合成装置に設置し
 た。通常の自動合成プログラムに従い、核酸配列を3' → 5' 方向に1塩基
 ずつ伸長し、配列末端の5' - OHまで合成した。

ブランチャー、スペーサー、リンカーについても、上記と同様に自動合成
 装置を用いた合成反応によりアプタマーに導入した。ブランチャーとして *S
 y m m e t r i c a l b r a n c h i n g C E D p h o s p h o r a m i
 d i t e* (ChemGenes社製) を6当量、すなわち900 μmol 用

いて核酸配列の5'末端側にリン酸ジエステル結合を介して付加反応を行った。このブランチャーの付加に引き続いて、同様に自動合成機を用いた合成反応により、リン酸ジエステル結合を介してスペーサー (ChemGenes社製 DMT-triethyloxy-Glycol phosphoramidite) を付加した。さらに5'末端側にアミノ基を付加させるためにリン酸ジエステル結合を介してssHアミノリンカー (Sigma-Aldrich社製 ssH-Linker phosphoramidite) を付加した。これらは9当量 (1350 μmol) を使用した。

ssHアミノリンカーまで付加した後、アンモニア水溶液により合成用担体から切り離し、塩基部分及びリン酸基部分の脱保護を行った。逆相クロマトグラフィーあるいはイオン交換クロマトグラフィー等で精製し、目的の5'アミノ化オリゴヌクレオチドを得た。

得られた5'アミノ化オリゴヌクレオチドの水溶液 (3 mmol/L) 4560 μL (13.68 μmol , アミノ基は27.36 μmol) と、DMSO : ACN = 4 : 1に溶解したJemkem社製 PEG (Y-NHS-40K Y-shape PEG NHS Ester, MW40000, 5 mmol/L) 24624 μL (123.12 μmol) を、0.1 M炭酸ナトリウム緩衝液 (pH 9.0) 中で25°C、2時間反応させた。このときのオリゴヌクレオチドの終濃度は0.42 mmol/Lで、PEGの終濃度は3.79 mmol/Lであった。反応後液体クロマトグラフィーにより精製することにより目的のPEG化オリゴヌクレオチドを得た (図1、2参照)。

[0189] 試験例1 : PEG-リンカー-スペーサー-ブランチャーをコンジュゲートしたアプタマーのマウス血中動態

アプタマーへのPEG-リンカー-スペーサー-ブランチャーの導入による効果を見るため、ブランチャーを介して2分岐のPEGを付加したアプタマー (実施例配列1、2、4、図1 構造1) と、ブランチャーなしの従来公知の構造に分岐PEGを付加したアプタマー (同 図1 構造4) を合成し、マウスにおける血中動態を調べた。各アプタマーを0.2 mg/mLで生理

食塩水に溶解し、雄性C57BL/6マウス（チャールス・リバー社）に1 mg/kgで静脈内投与した。5分から72時間後まで経時的に血液を採取した。血漿に分離し-70℃で保存した後、Judith M. Healyら（Pharmaceutical Research, December 2004, Volume 21, Issue 12, pp2234-2246）の方法に従い、ELOSA法（ハイブリダイゼーション法）を用いて本発明のアプタマーについて血漿中のアプタマー濃度を測定した。結果を下記表1に示す。

[0190] [表1]

表1. PEG—リンカー—スペーサー—ブランチャーをコンジュゲートしたアプタマーのマウス血中動態（静脈内投与）

アプタマー*)	ブランチャー	1アプタマー当りのPEGの数	1つのPEG当りの分子量	血中半減期 (hr)
実施例配列1	あり	2	40 kDa	25.7
	なし	1	80 kDa	17.1
実施例配列2	あり	2	40 kDa	22.5
	なし	1	80 kDa	10.5
実施例配列4	あり	2	40 kDa	28.7
	なし	1	80 kDa	17.5

*) 1つのアプタマーに付加される分岐PEGの総分子量は80 kDa

[0191] 測定の結果、新たにブランチャーを導入したアプタマー（実施例配列1、2、4、図1 構造1）は、従来公知のアプタマー（同 図1 構造4）と比較して、最大で2倍以上血中半減期が延長された。したがって、アプタマーの血中濃度の維持には、リンカー—スペーサー—ブランチャーを用いて核酸配列とPEGを繋ぐことが非常に有用であることが確認された。

[0192] 試験例2：PEGとブランチャーを繋ぐスペーサー・リンカーの違いによるマウス血中動態の比較

ブランチャーとPEGの間を繋ぐスペーサー・リンカーの有無及び種類について検討した。実施例配列2の核酸配列にブランチャーを付加させた後、

40 kDa 2分岐のPEGと連結させるためにスペーサーとssHアミノリンカーを用いたアプタマー（総PEG分子量：80 kDa、図1 構造1）、スペーサーを介さずにssHアミノリンカーのみを用いたアプタマー（総PEG分子量：80 kDa、図1 構造2）、及びリンカーとして「5'-MMT-Amino-Modifier-11-CEリンカー」を用いたアプタマー（総PEG分子量：80 kDa、図1 構造3）をそれぞれ合成した。アプタマーを0.2 mg/mLで生理食塩水に溶解し、雄性C57BL/6マウス（チャールス・リバー社）に1 mg/kgで静脈内投与した。5分から72時間後まで経時的にそれぞれ血液を採取した。血漿に分離し-70°Cで保存した後、Judith M. Healyら（Pharmaceutical Research, December 2004, Volume 21, Issue 12, pp2234-2246）の方法に従い、ELISA法（ハイブリダイゼーション法）を用いて本発明のアプタマーについて血漿中のアプタマー濃度を測定した。結果を下記表2に示す。

[0193] [表2]

表2. ブランチャーと40 kDa 2分岐のPEG（総PEG分子量：80 kDa）を繋ぐスペーサー・リンカーの検討

アプタマー	スペーサー	リンカー	血中半減期 (hr)
実施例配列2	あり	ssH アミノリンカー	22.5
	なし	ssH アミノリンカー	27.0
	なし	5'-MMT-Amino-Modifier-11-CEリンカー	21.8

[0194] 測定の結果、ssHアミノリンカーのみでPEGとブランチャーを繋いだアプタマー（図1 構造2）の血中半減期が27時間で最も延長されていたが、スペーサーとssHアミノリンカーでPEGとブランチャーを繋いだアプタマー（図1 構造1）及び「5'-MMT-Amino-Modifier-11-CEリンカー」でPEGとブランチャーを繋いだアプタマー（図1

構造3)の血中半減期は22.5時間、21.8時間となり、3つのアプタマーで血中半減期に大きな差はみられなかった。

以上より、アプタマーの血中濃度を著しく長期に渡り維持することが明らかになったPEG—リンカー—スペーサー—ブランチャーの構造において、必ずしもスペーサーは必要とせず、また、リンカーは種類を限定する必要がないことが確認された。

[0195] 試験例3：核酸にブランチャー—スペーサー—リンカーを介して付加されるPEGの種類の違いによるマウス血中動態の比較

試験例1に従い、実施例配列3の核酸配列にブランチャー、スペーサー、ssH アミノリンカーと付加させた後、40kDa 2分岐のPEG或いは40kDa分岐なしのPEGを付加させたアプタマー（ともに総PEG分子量：計80kDa）をそれぞれ合成した（図1 構造1）。アプタマーを0.2mg/mLで生理食塩水に溶解し、雄性C57BL/6マウス（チャールス・リバー社）に1mg/kgで静脈内投与した。5分から72時間後まで経時的にそれぞれ血液を採取した。血漿に分離し-70℃で保存した後、Judith M. Healyら（Pharmaceutical Research, December 2004, Volume 21, Issue 12, pp 2234-2246）の方法に従い、ELISA法（ハイブリダイゼーション法）を用いて本発明のアプタマーについて血漿中のアプタマー濃度を測定した。結果を下記表3に示す。

[0196] [表3]

表3. 核酸にブランチャー—スペーサー—リンカーを介して付加されるPEGの種類を検討

アプタマー	PEGの分岐数	分子量	総PEG分子量	血中半減期 (hr)
実施例配列3	2	40kDa	80kDa	22.8
	分岐なし	40kDa	80kDa	4.9

[0197] 分岐なしのPEGを用いた場合、アプタマーの血中半減期は4.9時間と2分岐のPEGを用いた場合（22.8時間）と比較して著しく短くなった。

以上より、アプタマーの血中濃度を著しく長期にわたり維持することが明らかになったPEG-リンカー-スパーサー-ブランチャーの構造において、付加するPEGは少なくとも2つ以上の分岐鎖をもつものが好ましいことが確認できた。

[0198] 試験例4：PEG-リンカー-スパーサー-ブランチャーをコンジュゲートしたアプタマーの Maus 皮下投与での血中動態

試験例1に従い、実施例配列1、2、3及び4の核酸配列にブランチャー、スパーサー、ssH アミノリンカーと付加させた後、40kDa 2分岐のPEGを付加させたアプタマー（ともに総PEG分子量：80kDa）をそれぞれ合成した（図1 構造1）。アプタマーを0.1mg/mLで生理食塩水に溶解し、雄性C57BL/6マウス（チャールス・リバー社）に1mg/kgで皮下投与した。30分から72時間後まで経時的にそれぞれ血液を採取した。血漿に分離し-70℃で保存した後、Judith M. Healyら（Pharmaceutical Research, December 2004, Volume 21, Issue 12, pp2234-2246）の方法に従い、ELISA法（ハイブリダイゼーション法）を用いて本発明のアプタマーについて血漿中のアプタマー濃度を測定した。結果を下記表4に示す。

[0199] [表4]

表4. PEG-リンカー-スパーサー-ブランチャーをコンジュゲートしたアプタマーの Maus 血中動態（皮下投与）

アプタマー	AUC _{inf} (hr · ng/mL)	t _{1/2} (hr)	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (hr)
実施例配列1	554000	30.1	9220	14
実施例配列2	301000	25.3	6450	12
実施例配列3	572000	29.8	9430	24
実施例配列4	626000	32.7	9520	16

[0200] PEG-リンカー-スパーサー-ブランチャーをコンジュゲートしたアプタマーは皮下投与でも血中に移行し、高い血中濃度を長時間維持できることが確認できた。

[0201] 試験例5：PEG-リンカー-スパーサー-ブランチャーをコンジュゲートしたアプタマーのサル血中動態

サルでの血中動態をみるため、試験例4と同様に実施例配列1、3及び4の核酸配列にブランチャー、スパーサー、ssHアミノリンカーと付加させた後、40kDa 2分岐のPEGを付加させたアプタマー（総PEG分子量：80kDa）をそれぞれ合成した（図1 構造1）。これらのアプタマーをカニクイザルに静脈内あるいは皮下投与して血中動態を調べた。アプタマーを1mg/mLで生理食塩水に溶解し、カニクイザルに1mg/kgで静脈内投与し、5分から96時間までそれぞれ血液を採取した。血漿に分離し-70℃で保存した後、Judith M. Healyら（Pharmaceutical Research, December 2004, Volume 21, Issue 12, pp2234-2246）の方法に従い、ELOS A法（ハイブリダイゼーション法）を用いて本発明のアプタマーについて血漿中の残存核酸濃度を測定した。また同じくアプタマーを1mg/kg/mLにて皮下投与し、15分から120時間までそれぞれ血液を採取した。以下同様の方法にて血漿分離し-70℃に保存後、ELOS A法を用いて血漿中のアプタマー濃度を測定した。

測定の結果、図3、図4及び図5に示すようにPEG-リンカー-スパーサー-ブランチャーをコンジュゲートしたアプタマーは、サルにおいても投与後1日から5日に相当する非常に長期間、高い血中濃度を維持できることがわかった。特に実施例配列3のアプタマーにおいては、72.0時間（静脈内投与）及び107.0時間（皮下投与）と、半減期の大幅な延長が認められた（図4）。

[0202] 試験例6：PEG-リンカー-スパーサー-ブランチャーをコンジュゲートしたアプタマーのIL-17中和活性（in vitro）

実施例配列1、2、3及び4の核酸配列にブランチャー、スペーサー、ssH アミノリンカーと付加させた後、40kDa 2分岐のPEGを付加させたアプタマー（ともに総PEG分子量：80kDa）をそれぞれ合成した（図1 構造1）。そして、もとの核酸配列のみのアプタマーと併せて、それぞれのアプタマーのIL-17中和活性を測定した。評価は培養細胞においてIL-17とTNF α の細胞刺激により放出されるIL-6量を測定することにより行った。

ヒトIL-17（10ng/mL）と様々な濃度に希釈したアプタマーを37°Cで30分間プレインキュベートし、マウスTNF α （2ng/mL）とともにNIH3T3細胞（ATCC、CRL1658、 1.25×10^5 cells/mL）に加えた。次いで、24時間インキュベートした後、培養上清を回収した。-70°Cに保存後、ELISA法によってIL-6の産生量を測定した。IL-6産生量から各アプタマーのIL-17阻害作用を評価した。50%阻害濃度（IC₅₀値）を下記表5に示す。

アプタマーのIL-17阻害作用を検証するELISA法は以下の通りに行った。

ELISA用マイクロタイタープレートを、PBSで希釈したラット抗マウスIL-6抗体（BDバイオサイエンス社、2 μ g/mL；100 μ L/ウェル）を用いて被膜し、4°Cで一晩インキュベートした。翌日、マイクロタイタープレートをPBS/0.05%ツイーン20で3回洗浄した後に、PBS/1%BSA（200 μ L/ウェル）を用いて室温で2時間ブロッキングした。次いでプレートを、PBS/0.05%ツイーン20で3回洗浄した。PBS/1%BSA/0.05%ツイーン20を用いて段階希釈したリコンビナントマウスIL-6（BD バイオサイエンス社；100 μ L/ウェル）および培養上清（100 μ L/ウェル）を加え、室温で2時間インキュベーションした後、プレートをPBS/0.05%ツイーン20で3回洗浄した。ビオチンコンジュゲートラット抗マウスIL-6抗体を（BDバイオサイエンス社、最終希釈1/500；100 μ L/ウェル）で加え、室温で1時間反応

させた。PBS／0.05%ツイン20で3回洗浄後、アルカリホスファターゼコンジュゲートストレプトアビジンを（最終希釈1／1000；100μL/ウェル）で加えた。室温で30分後、プレートを再びPBS／0.05%ツイン20で4回洗浄し、基質(1-Step PNPP；Thermo Fisher Scientific Inc；100μL/ウェル)を加えた。15分後に水酸化ナトリウム水溶液（2N：50μL/ウェル）を加えて反応を停止し、プレートをマイクロタイターリーダー（Bio-Rad）で、405nmのフィルターを用いて読み取った。

[0203] [表5]

表5. PEG-リンカー-スパーサー-ブランチャーをコンジュゲートしたアプタマーのIL-17中和活性

アプタマー	IC ₅₀ (nM)
実施例配列1	0.041
実施例配列1 ^{*)}	0.223
実施例配列2	0.18
実施例配列2 ^{*)}	0.30
実施例配列4	0.060
実施例配列4 ^{*)}	0.123

^{*)} 核酸配列のみ

[0204] 測定の結果、PEG-リンカー-スパーサー-ブランチャーをコンジュゲートしたアプタマーは、IL-17により誘導されるIL-6産生を阻害した。したがって、本発明におけるPEG-リンカー-スパーサー-ブランチャーをコンジュゲートしたアプタマーは、IL-17中和活性を保持することが確認された。

[0205] 試験例7-1：PEG-リンカー-スパーサー-ブランチャーをコンジュゲートしたアプタマーのIL-17中和活性試験 (in vivo)

PEG-リンカー-スパーサー-ブランチャーをコンジュゲートしたアプタマーがIL-17の作用を生体内でも阻害できるか否かを、*Biochemical Pharmacology* 77, 878-887 (2009)を参考に、マウス空気嚢炎症モデルで確認した。

試験例6と同様に、実施例配列1、3及び4の核酸配列にブランチャー、スパーサー、ssH アミノリンカーと付加させた後、40kDa 2分岐のPEGを付加させたアプタマー（総PEG分子量：80kDa）をそれぞれ合成した（図1 構造1）。雄性C57BL/6J（7週齢、チャールス・リバー社）マウスの背部を剃毛し、その翌日及び4日後に背部皮下に空気を2.5mL注入した。2回目の空気注入より3日後に、PEG-リンカー-スパーサー-ブランチャーをコンジュゲートした本発明のアプタマー（0.3、1、3 mg/kg）あるいは生理食塩水を腹腔内投与し、1時間後にIL-17（0.5 μg）を含む2%カルボメチルセルロース水溶液を空気嚢内に投与した。IL-17を注入してから24時間後に空気嚢内の滲出液を回収した。-70℃に保存後、滲出液中のIL-6量を試験例6に記載したELISAで測定した。

図6、7、8に示すように本発明のアプタマーを投与した群では、有意に空気嚢内のIL-6量が少なかった。したがって、本発明におけるPEG-リンカー-スパーサー-ブランチャーをコンジュゲートしたアプタマーは、IL-17中和活性を生体内でも保持することが確認された。

[0206] 試験例7-2：PEG-リンカー-スパーサー-ブランチャーをコンジュゲートしたアプタマーのIL-17中和活性試験（*in vivo*）

PEG-リンカー-スパーサー-ブランチャーをコンジュゲートしたアプタマーと従来用いられているPEG-リンカーのみをコンジュゲートしたアプタマーの生体内でのIL-17中和活性の持続性を、コラーゲン誘発関節炎モデルマウスで比較した。試験例6と同様に、実施例配列1の核酸配列にブランチャー、スパーサー、ssH アミノリンカーと付加させた後、40kDa 2分岐のPEGを付加させたアプタマー（総PEG分子量：80kDa

）をそれぞれ合成した（図1 構造1）。S Toyamaらの方法（*Arthritis Res Ther* 12, R92（2010））に従い、本発明のアプタマーのコラーゲン誘導関節炎モデルに対する抑制作用を調べた。

すなわち、雄性DBA/1マウス（8週齢、チャールス・リバー社）の尾根部に完全アジュバント（Chondrex社）で乳化したウシII型コラーゲン（ $200\mu\text{g}/\text{head}$ 、コラーゲン技術研修会）を皮内投与した（実験第1日目）。実験第22日目に不完全アジュバントで乳化したウシII型コラーゲンで追加免疫するとともに、合成したアプタマー（ $3\text{mg}/\text{kg}$ ）をそれぞれ2日に1回、腹腔内投与した。なお、コントロールとして、生理食塩水を $10\text{mL}/\text{kg}$ で2日に1回、腹腔内投与した。毎日動物を観察し、各肢の炎症の程度を0（無症状）から4（肢全体の発赤と最大の腫脹）までの5段階でスコア化し（1匹あたり最大16）、本発明のアプタマーの関節炎に対する薬効を評価した。

図9に示すようにブランチャーを介してPEGを付加したアプタマー（同、図1 構造1）を投与した群では、生理食塩水を投与した群と比較して、関節炎スコアは初回免疫後30日目より有意に減少していた。したがって、本発明におけるPEGーリンカーースペーサーーブランチャーをコンジュゲートしたアプタマーは、IL-17中和活性を生体内でより長く保持することが確認された。

[0207] また、同試験で、最終投与48時間後に血液を採取した。血漿に分離し 70°C で保存した後、Judith M. Healyら（*Pharmaceutical Research*, December 2004, Volume 21, Issue 12, pp2234-2246）の方法に従い、ELISA法（ハイブリダイゼーション法）を用いて本発明のアプタマーについて血漿中の残存核酸濃度を測定した。アプタマー濃度を測定した結果を下記表6に示す。

[0208]

[表6]

表6. 血漿中アダマーの濃度の比較

アダマー	ブランチャー	1アダマー 一当りの PEGの数	1つのPEG 当りの分子量	総PEG 分子量	血漿中濃度 (ng/mL)
実施例配列1	あり	2	40 kDa	80 kDa	20600
	なし	1	40 kDa	40 kDa	191

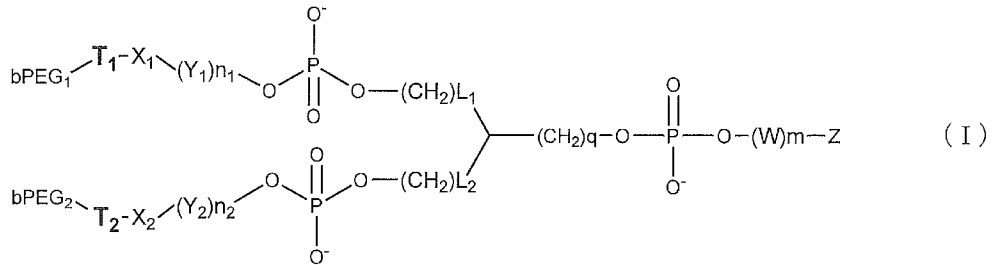
[0209] 測定の結果、新たにブランチャーを導入したアダマー（実施例配列1、
図1 構造1）は、ブランチャーを導入しないアダマーと比較して、100
倍以上血漿中の濃度が高いことが分かった。したがって、アダマーが長期
に血中濃度を維持し、薬効を示すためには、リンカー—スペーサー—ブラ
ンチャーを介して核酸配列とPEGを繋ぐことが非常に有用であることが確
認された。

[0210] 本出願は、日本で出願された特願2015-237491（出願日：20
15年12月4日）を基礎としており、その内容は本明細書に全て包含され
るものである。

請求の範囲

[請求項1] 下記式 (I) :

[化1]



[式中、

mは0又は1であり、

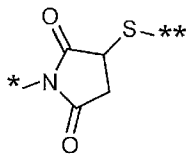
n₁及びn₂は、同一又は異なって、0又は1であり、

L₁及びL₂は、同一又は異なって、1～6の整数であり、

qは0～6の整数であり、

T₁及びT₂は、同一又は異なって、-C(O)-NH-、又は

[化2]



(*はbPEG₁又はbPEG₂の結合位置を示し、**はX₁又はX₂の結合位置を示す。) であり、

X₁及びX₂は、同一又は異なって、-(CH₂)₃-、-(CH₂)₆-、-(CH₂)₂OC(=O)NH(CH₂)₆-、-(CH₂)₂NHC(=O)O(CH₂)₆-、又は-(CH₂)₂-[O(CH₂)₂]_g- (ここで、gは2～5の整数である。) であり、

Y₁及びY₂は、同一又は異なって、-OP(=O)(O⁻)O(CH₂)₃-、-OP(=O)(O⁻)O(CH₂)₆-、-OP(=O)(

O-) O (CH₂)₁₂ -, 又は - OP (=O) (O-) - [O (CH₂)₂]_j - (ここで、jは2~6の整数である。) であり、

Wは、 - (CH₂)₃ OP (=O) (O-) O -, - (CH₂)₆ OP (=O) (O-) O -, - (CH₂)₁₂ OP (=O) (O-) O -, 又は - [O (CH₂)₂]_j - OP (=O) (O-) - であり、(ここで、jは2~6の整数である。) であり、

b P E G₁及びb P E G₂は、同一又は異なって、分岐鎖を持つ10~80kDaのポリエチレングリコールであり、

Zは、下記式 (I a) :

g (M) g (M) g (M) u (M) a' (M) g' (X₁) c (M)
c (M) g' g (M) a' (X₄) g (X₅) g (M) a (M) g (X₅)
) u' (F) c (X₇) a' (X₂) g (X₆) u' (F) r (X₃) a'
' (X₃) u (M) c (M) g (M) g (M) u' (X₇) a' (M)
c' (M) c' (M) c' (M) (配列番号105)

又は下記式 (I b) :

g (M) g (M) u (M) a' (M) g' (X₁) c (M) c (M)
g' g (M) a' (X₄) g (X₅) g (M) a (M) g (X₅) u' (F)
c (X₇) a' (X₂) g (X₆) u' (F) r (X₃) a' (X₃)
u (M) c (M) g (M) g (M) u' (X₇) a' (M) c' (M)
) c' (M) (配列番号106)

又は下記式 (I c) :

g (M) u (M) a' (M) g' (X₁) c (M) c (M) g' g (M)
a' (X₄) g (X₅) g (M) a (M) g (X₅) u' (F) c (X₇)
a' (X₂) g (X₆) u' (F) r (X₃) a' (X₃) u (M)
c (M) g (M) g (M) u' (X₇) a' (M) c' (M) (配列番号107)

又は下記式 (I d) :

u (M) a' (M) g' (X₁) c (M) c (M) g' g (M) a'

(X₄) g (X₅) g (M) a (M) g (X₅) u' (F) c (X₇) a
 ' (X₂) g (X₆) u' (F) r (X₃) a' (X₃) u (M) c (M
) g (M) g (M) u' (X₇) a' (M) (配列番号108)

{上記の式 (1 a)、(1 b)、(1 c) 及び (1 d) 中、

a、g、c 及び u は、それぞれ、塩基がアデニン、グアニン、シトシン及びウラシルであるリボヌクレオチドを示し、

r は、塩基がアデニン又はグアニンであるリボヌクレオチドを示し、

a'、g' 及び c' は、それぞれ、塩基がアデニン、グアニン及びシトシンである、リボヌクレオチド又はデオキシリボヌクレオチドを示し、

u' は、塩基がウラシルであるリボヌクレオチド、塩基がウラシルであるデオキシリボヌクレオチド又は塩基がチミンであるデオキシリボヌクレオチドを示し、

ヌクレオチドにおける括弧は、そのヌクレオチドの修飾を示し、

(M) は、ヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、そのリボースの2'位のヒドロキシル基がO-メチル基で置き換えられていることを示し、

(F) は、ヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、そのリボースの2'位のヒドロキシル基がフッ素原子で置き換えられていることを示し、

(X₁) は、ヌクレオチドが非修飾であるか、ホスホロチオエート化されているか、又はヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、そのリボースの2'位のヒドロキシル基がフッ素原子で置き換えられていることを示し、

(X₂) は、ヌクレオチドが非修飾であるか、又はヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、そのリボースの2'位のヒドロキシル基がフッ素原子で置き換えられていることを示し、

(X₃) は、ヌクレオチドが非修飾であるか、又はヌクレオチドがリ

ボヌクレオチドの場合に、そのリボースの2'位のヒドロキシル基が
 O-メチル基で置き換えられていることを示し、

(X₄)は、ヌクレオチドが非修飾であるか、又はヌクレオチドがリ
 ボヌクレオチドの場合に、そのリボースの2'位のヒドロキシル基が
 フッ素原子又はO-メチル基で置き換えられていることを示し、

(X₅)は、ヌクレオチドが非修飾であるか、ホスホロチオエート化
 されていることを示し、

(X₆)は、ヌクレオチドが非修飾であるか、ホスホロチオエート化
 されているか、又はヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、その
 リボースの2'位のヒドロキシル基がO-メチル基で置き換えられて
 いることを示し、

(X₇)は、ヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、そのリボ
 ースの2'位のヒドロキシル基がフッ素原子又はO-メチル基で置き換
 えられていることを示す。}、

又は下記式(IIa)：

g(x₁) g(x₁) g(x₁) u(F) a g(S) c(F) c(F) g
 ' (S) g(x₂) a g g a g u(F) c(F) a g u(F) a a u
 (F) c(F) g g u(F) a c' (x₃) c' (x₃) c' (x₃) (配列番号109)

又は下記式(IIb)：

g(x₁) g(x₁) u(F) a g(S) c(F) c(F) g' (S)
 g(x₂) a g g a g u(F) c(F) a g u(F) a a u(F) c
 (F) g g u(F) a c' (x₃) c' (x₃) (配列番号110)

又は下記式(IIc)：

g(x₁) u(F) a g(S) c(F) c(F) g' (S) g(x₂)
 a g g a g u(F) c(F) a g u(F) a a u(F) c(F) g g
 u(F) a c' (x₃) (配列番号111)

{上記の式(IIa)、(IIb)及び(IIc)中、

(S) は、ヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、ホスホロチオエート化されていることを示し、

(x_1) は、ヌクレオチドが Locked Nucleic Acid (LNA) 修飾されているか、又はヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、そのリボースの2'位のヒドロキシル基がO-メチル基で置き換えられていることを示し、

(x_2) は、ヌクレオチドが非修飾であるか、又はヌクレオチドがリボヌクレオチドの場合に、そのリボースの2'位のヒドロキシル基がO-メチル基で置き換えられていることを示し、

(x_3) は、ヌクレオチドが非修飾であるか、又はLNA修飾されていることを示し、

その他の記号は前記と同義である。}

で表される配列を含むアプタマーである。]

で表される化合物又はその製薬学的に許容される塩、溶媒和物若しくは水和物。

[請求項2]

mが0であり、

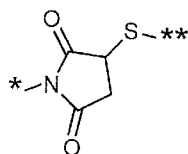
n_1 及び n_2 がいずれも、0又は1であり、

L_1 及び L_2 がいずれも1であり、

qが0であり、

T_1 及び T_2 は、同一又は異なって、 $-C(O)-NH-$ 、又は、

[化3]



(*はbPEG₁又はbPEG₂の結合位置を示し、**はX₁又はX₂の結合位置を示す。)であり、

X₁及びX₂が同一であって、 $-(CH_2)_6-$ 、 $-(CH_2)_2OC($

$=O) NH (CH_2)_6 -$ 、 $- (CH_2)_2 NHC (=O) O (CH_2)_6 -$ 、又は $- (CH_2)_2 - [O (CH_2)_2]_3 -$ であり、且つ、 Y_1 及び Y_2 がいずれも $- OP (=O) (O^-) O (CH_2)_3 -$ 、 $- OP (=O) (O^-) O (CH_2)_6 -$ 、 $- OP (=O) (O^-) O (CH_2)_{12} -$ 、又は $- OP (=O) (O^-) - [O (CH_2)_2]_3 -$ である、

請求項1に記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩、溶媒和物若しくは水和物。

[請求項3]

m が0であり、

n_1 及び n_2 がいずれも0又は1であり、

L_1 及び L_2 がいずれも1であり、

q が0であり、

T_1 及び T_2 がいずれも $- C (O) - NH -$ であり、

X_1 及び X_2 がいずれも、 $- (CH_2)_6 -$ 、 $- (CH_2)_2 OC (=O) NH (CH_2)_6 -$ 、 $- (CH_2)_2 NHC (=O) O (CH_2)_6 -$ 、又は $- (CH_2)_2 - [O (CH_2)_2]_3 -$ であり、且つ、

Y_1 及び Y_2 がいずれも $- OP (=O) (O^-) O (CH_2)_3 -$ 、 $- OP (=O) (O^-) O (CH_2)_6 -$ 、 $- OP (=O) (O^-) O (CH_2)_{12} -$ 、又は $- OP (=O) (O^-) - [O (CH_2)_2]_3 -$ である、

請求項1に記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩、溶媒和物若しくは水和物。

[請求項4]

m が0であり、

n_1 及び n_2 がいずれも1であり、

L_1 及び L_2 がいずれも1であり、

q が0であり、

T_1 及び T_2 がいずれも $- C (O) - NH -$ であり、

X_1 及び X_2 がいずれも $- (CH_2)_6 -$ 、又は $- (CH_2)_2 OC (=$

O) $\text{NH}(\text{CH}_2)_6-$ であり、且つ、
 Y_1 及び Y_2 がいずれも $-\text{OP}(=\text{O})(\text{O}^-)-[\text{O}(\text{CH}_2)_2]_3-$
 である、

請求項 1 に記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩、溶媒和物
 若しくは水和物。

[請求項5]

m が 0 であり、

n_1 及び n_2 がいずれも 0 であり、

L_1 及び L_2 がいずれも 1 であり、

q が 0 であり、且つ、

T_1 及び T_2 がいずれも $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-$ であり、

X_1 及び X_2 がいずれも $-(\text{CH}_2)_6-$ 、 $-(\text{CH}_2)_2\text{OC}(=\text{O})$

$\text{NH}(\text{CH}_2)_6-$ 、又は $-(\text{CH}_2)_2-[\text{O}(\text{CH}_2)_2]_3-$ である

、

請求項 1 に記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩、溶媒和物
 若しくは水和物。

[請求項6]

Z が、配列番号 1 ~ 104 に示す配列を含むアプタマーである、請
 求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の化合物又はその製薬学的に許容さ
 れる塩、溶媒和物若しくは水和物。

[請求項7]

$b\text{PEG}_1$ 及び $b\text{PEG}_2$ が、分岐鎖を持つ 15 ~ 45 kDa のポ
 リエチレングリコールであり、且つ、

Z が、配列番号 1 ~ 104 のいずれかに示す配列を含むアプタマーで
 ある、

請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の化合物又はその製薬学的に許容
 される塩、溶媒和物若しくは水和物。

[請求項8]

$b\text{PEG}_1$ 及び $b\text{PEG}_2$ が、分岐鎖を持つ 35 ~ 45 kDa のポ
 リエチレングリコールである、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の
 化合物又はその製薬学的に許容される塩、溶媒和物若しくは水和物。

[請求項9]

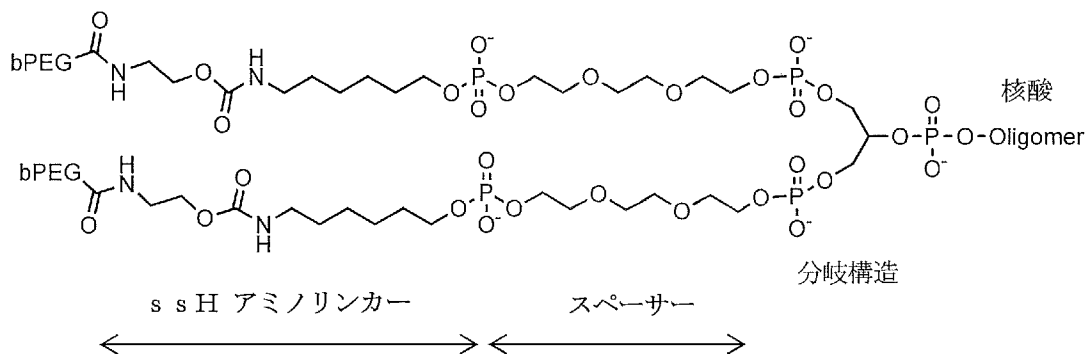
請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の化合物又はその製薬学的に許

容される塩、溶媒和物若しくは水和物を含む医薬。

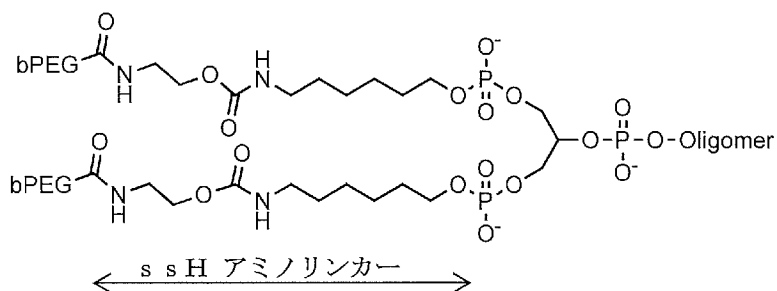
[請求項10] 炎症性疾患、自己免疫疾患、癌、アレルギー、又は感染症に関連する治療又は予防に用いるための、請求項9に記載の医薬。

[図1]

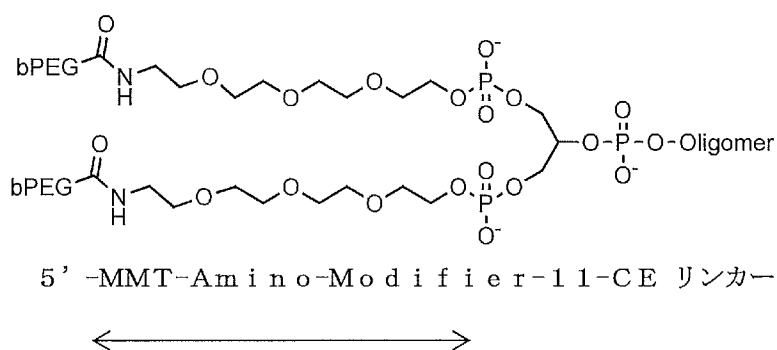
構造1：核酸部分は、実施例配列1（試験例1、4～7-1、7-2）、実施例配列2（試験例1, 2, 4, 6）、実施例配列3（試験例3、4～7-1）、実施例配列4（試験例1、4～6、7-1）



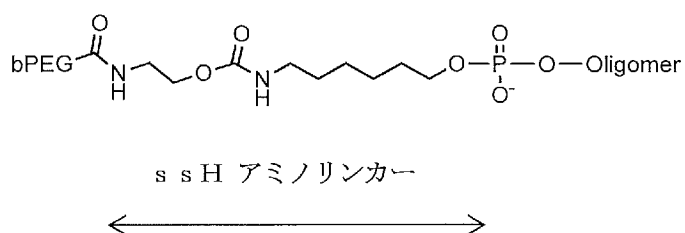
構造2：核酸部分は、実施例配列2（試験例2）



構造3：核酸部分は、実施例配列2（試験例2）



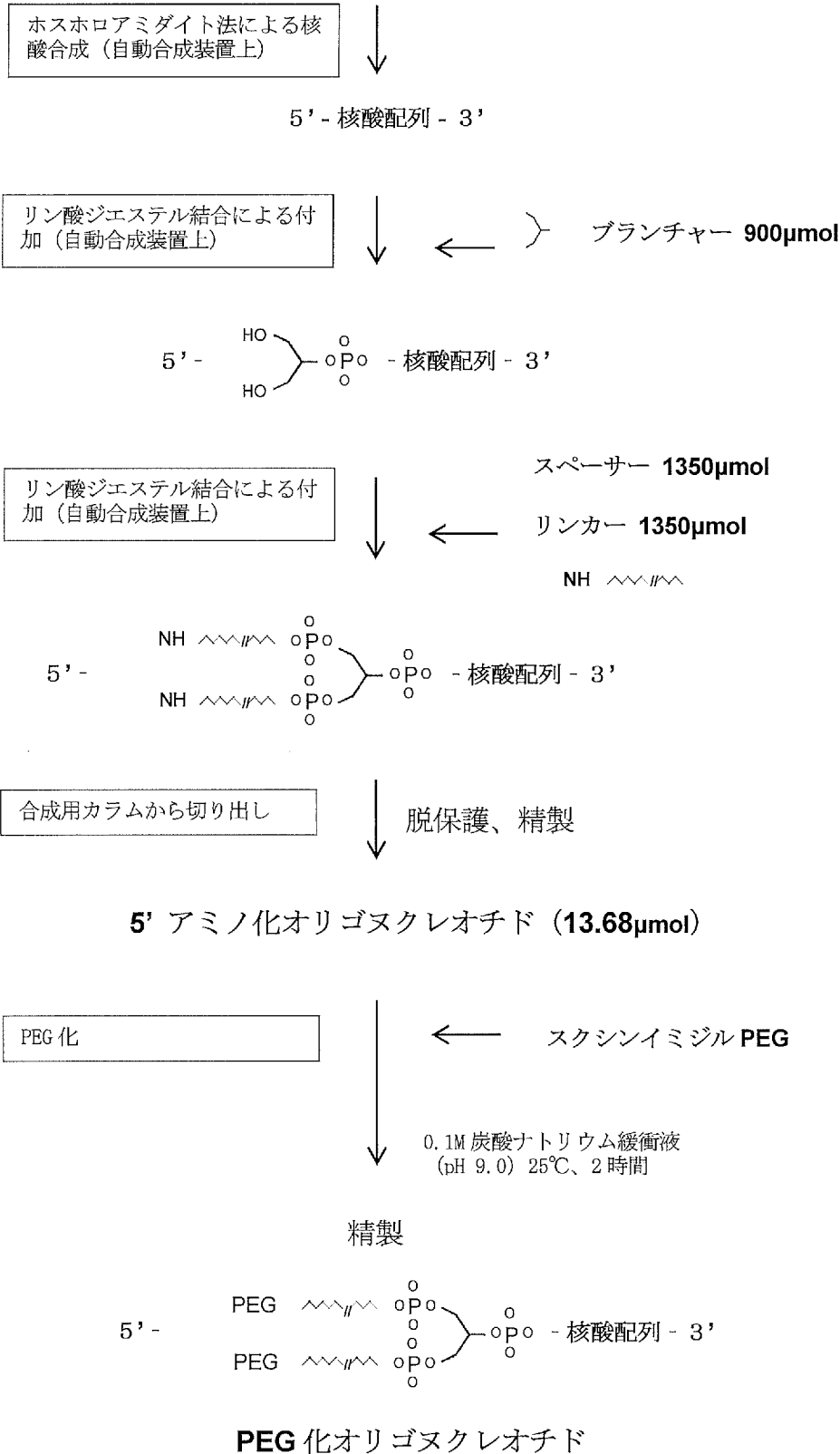
構造4：核酸部分は、実施例配列1（試験例1）、実施例配列2（試験例1）、実施例配列3（試験例1）、実施例配列4（試験例1）



[図2-1]

(1) 合成手順の概略

実施例核酸 1～4 : 3'末端ヌクレオチド **150 μ mol** (合成用カラム)

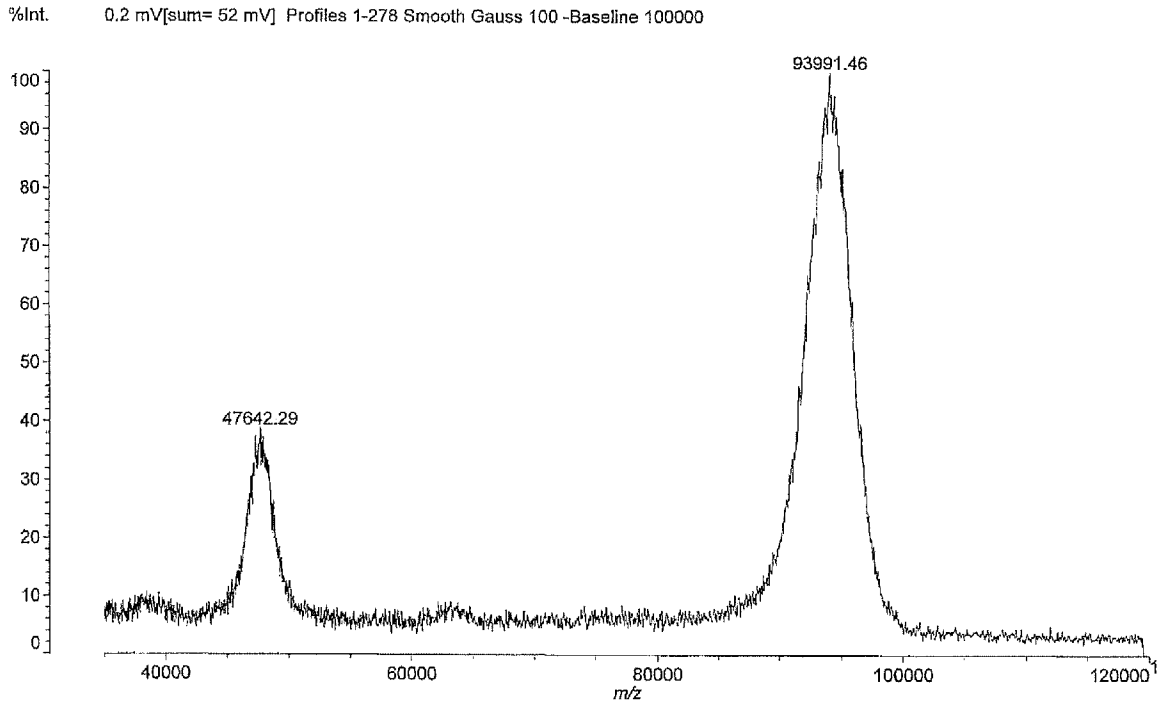


図中、5' -、3' - はオリゴヌクレオチド (核酸) の方向を、
 $\begin{array}{c} \text{O} \\ \diagup \\ \text{O} \\ \diagdown \\ \text{O} \end{array}$ はリン酸ジエステル結合を示す

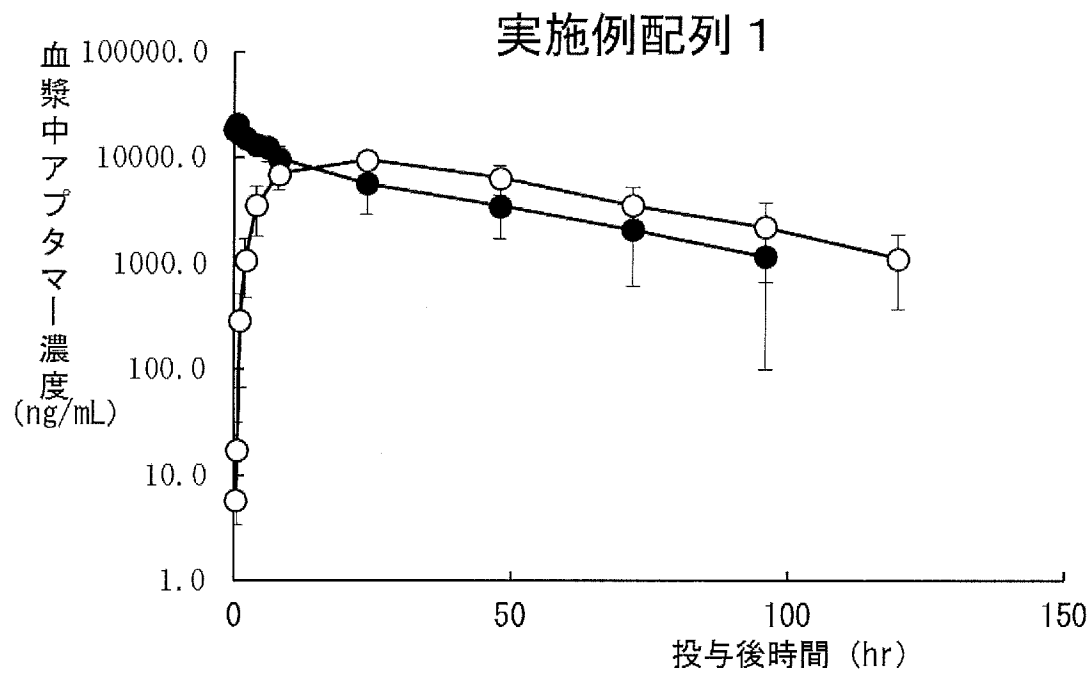
[図2-2]

(2) 最終産物の確認例

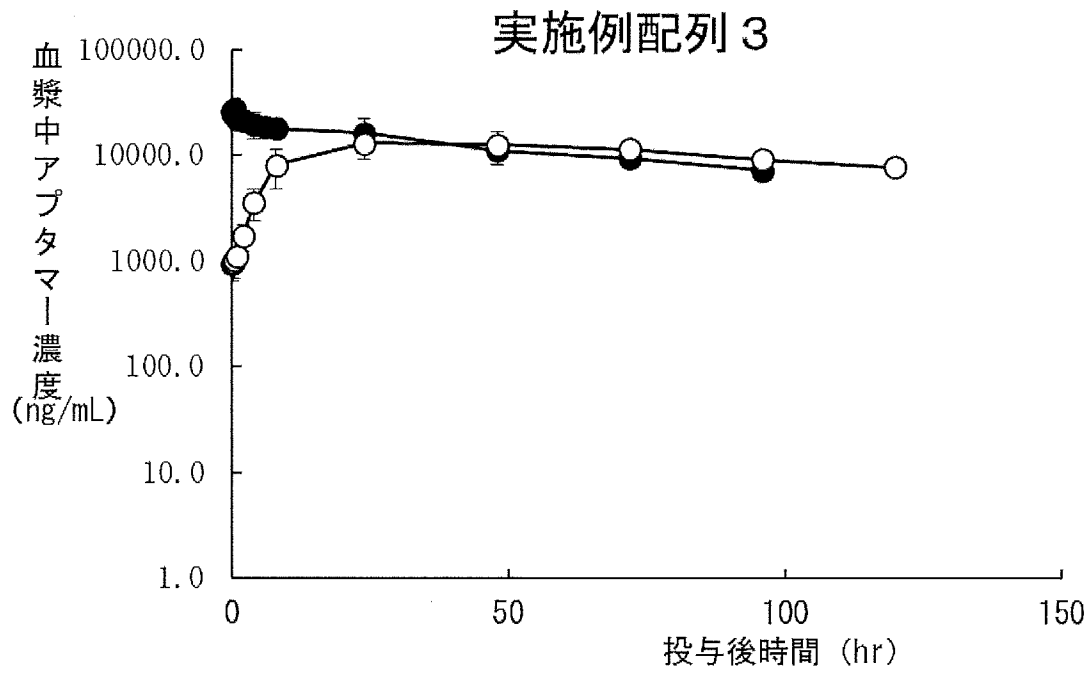
実施例配列4のPEG化オリゴヌクレオチドのMALDI-TOF-MS分析結果



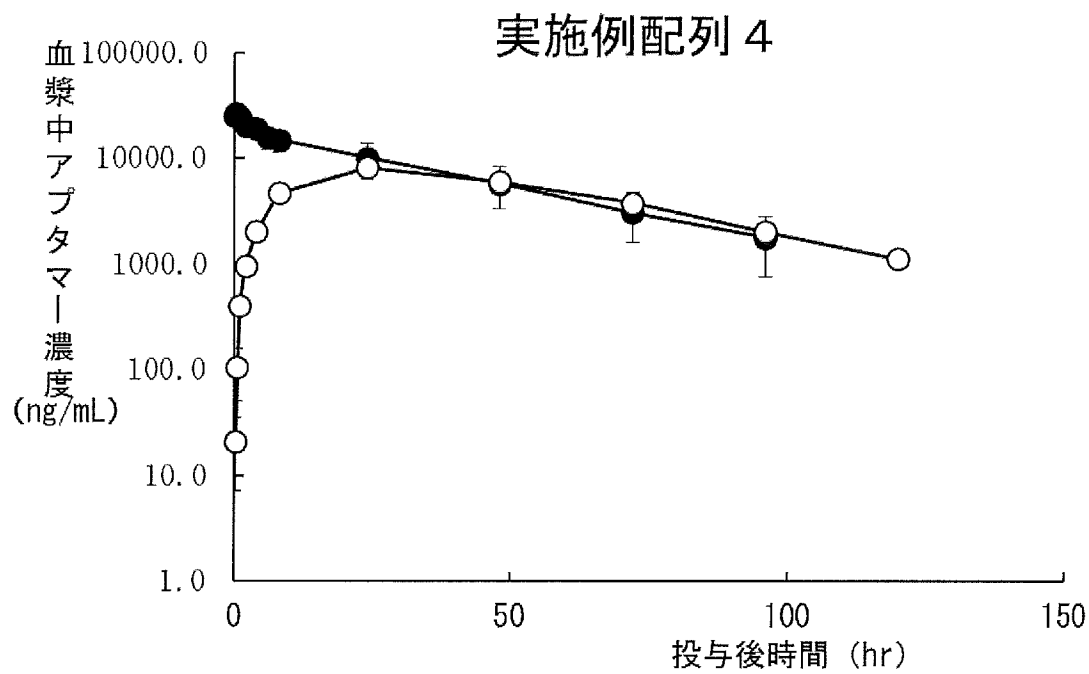
[図3]



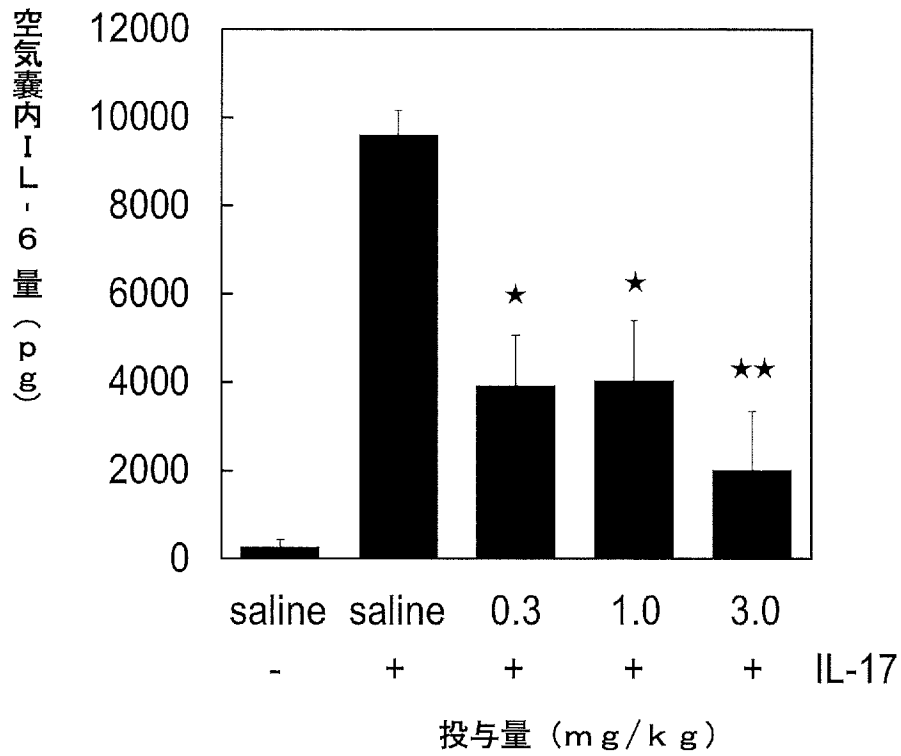
[図4]



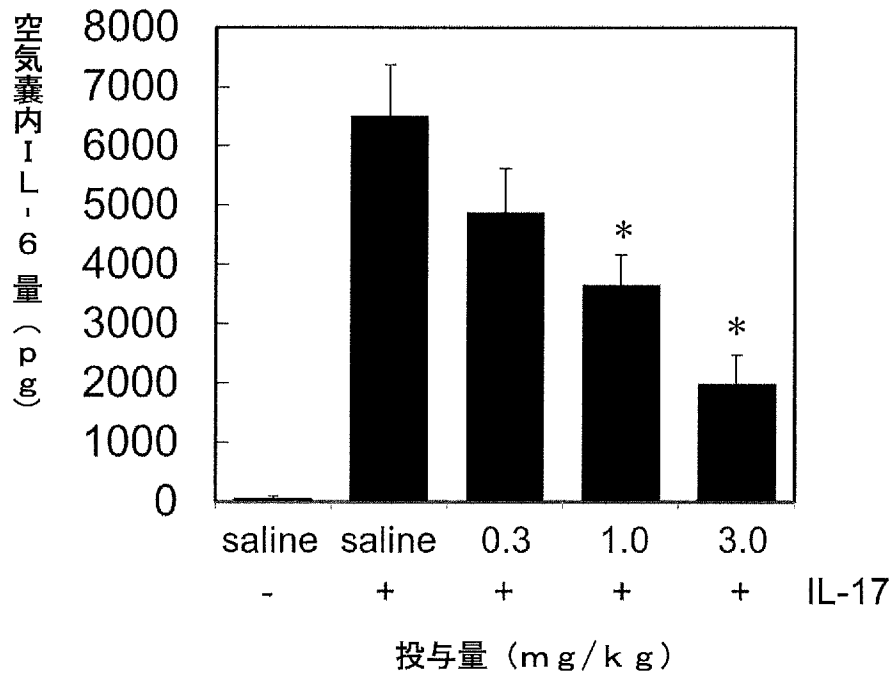
[図5]



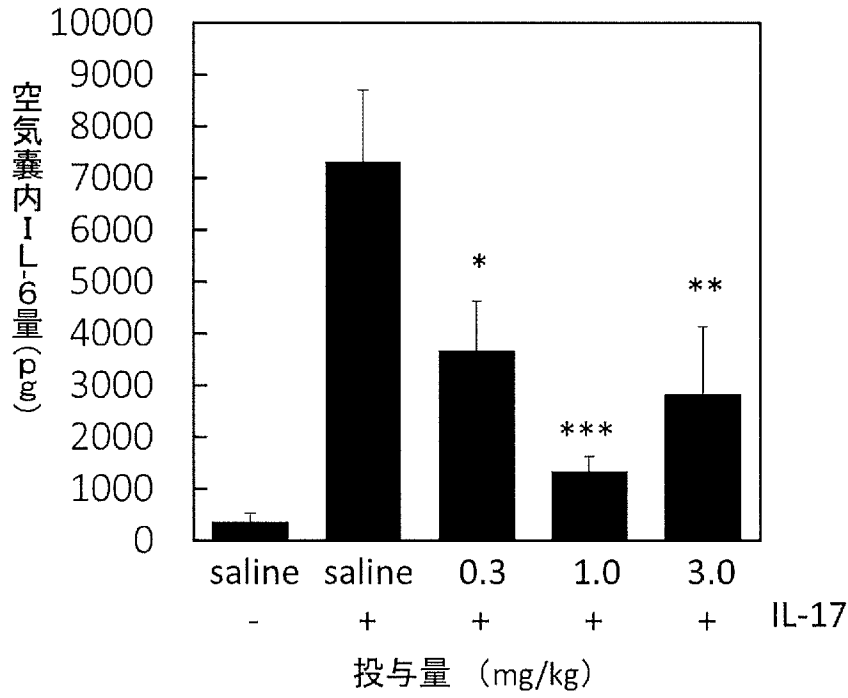
[图6]



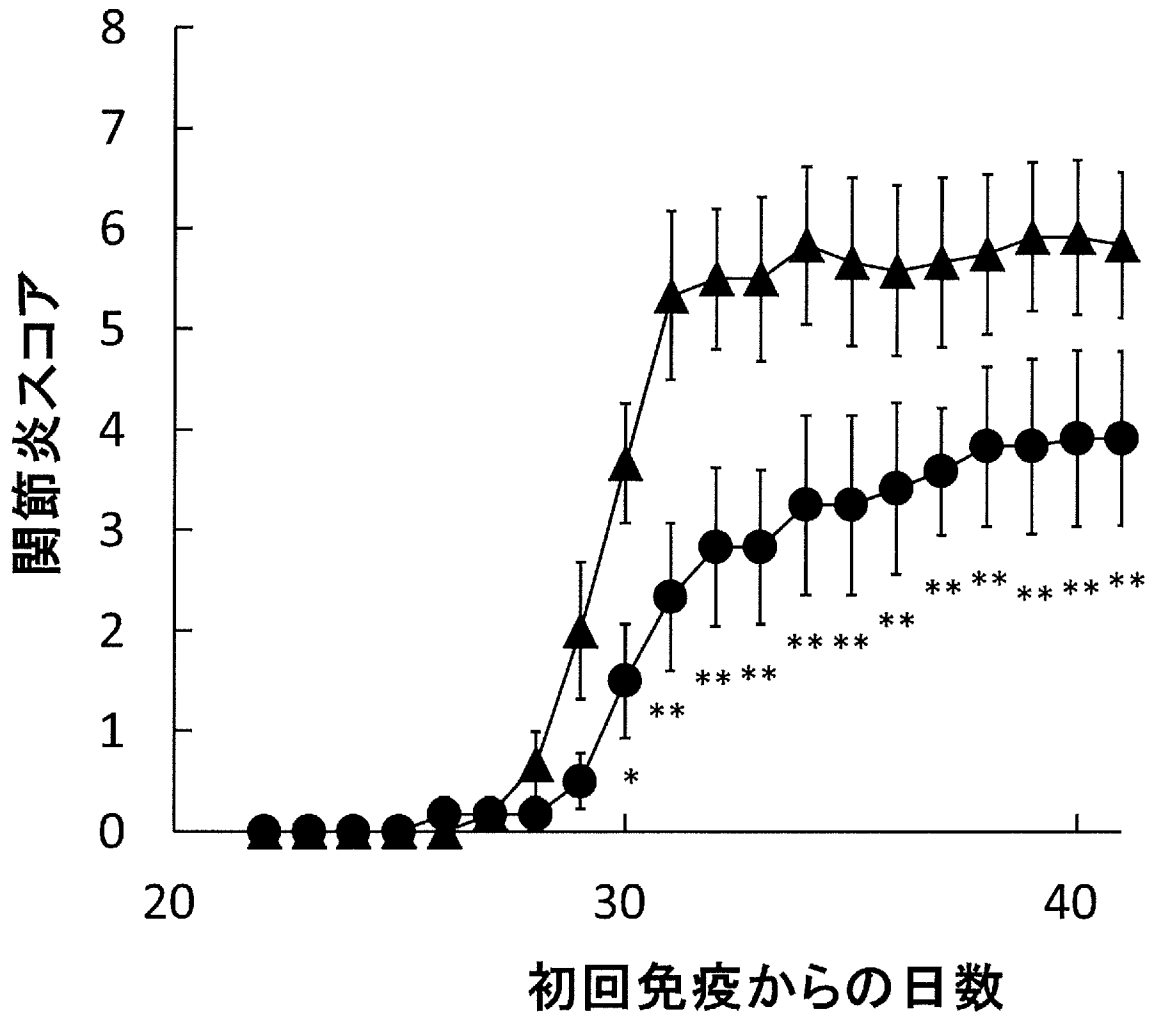
[图7]



[図8]



[図9]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/085948

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C12N15/115(2010.01)i, A61K31/7088(2006.01)i, A61K48/00(2006.01)i, A61P29/00(2006.01)i, A61P31/00(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, A61P37/06 (2006.01)i, A61P37/08(2006.01)i 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) C12N15/00-15/90, A61K31/7088, A61K48/00, A61P29/00, A61P31/00, A61P35/00, A61P37/06, A61P37/08 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2017 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2017 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2017 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII), CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2014/148638 A1 (The University of Tokyo), 25 September 2014 (25.09.2014), claims; paragraphs [0014], [0042] to [0044] & US 2016/0046944 A claims; paragraphs [0017], [0062] to [0064] & EP 2977454 A1 & CA 2907636 A & KR 10-2015-0135409 A & CN 105264072 A	1-10
P, Y	HARUTA, Kazuhiko et al., A Novel PEGylation Method for Improving the Pharmacokinetic Properties of Anti-Interleukin-17A RNA Aptamers, Nucleic Acid Ther., 2017, Vol. 27, pp. 36-44, Published online: 2016 Nov 9 Abstract, fig. 1	1-10
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 21 February 2017 (21.02.17)		Date of mailing of the international search report 28 February 2017 (28.02.17)
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/085948

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, Y	Shinsuke HIRAMOTO et al., "Improvements of pharmacokinetic properties of anti-Interleukin-17A aptamer by a novel PEGylation method", the 39th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan online summary, 16 November 2016 (16.11.2016), 1P-0795, entire text	1-10
A	JP 2013-502218 A (Baxter International Inc.), 24 January 2013 (24.01.2013), & US 2011/0098345 A1 & WO 2011/022427 A1 & EP 2467167 A1 & KR 10-2012-0061086 A & CN 102869385 A	1-10
A	WO 2008/048079 A1 (POSTECH ACADEMY-INDUSTRY FOUNDATION), 24 April 2008 (24.04.2008), & US 2010/0261245 A1	1-10
A	JP 2006-516288 A (Archemix Corp.), 29 June 2006 (29.06.2006), & US 2004/0253243 A1 & WO 2004/064760 A2 & EP 1606301 A2 & CN 1984920 A	1-10

<p>A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))</p> <p>Int.Cl. C12N15/115(2010.01)i, A61K31/7088(2006.01)i, A61K48/00(2006.01)i, A61P29/00(2006.01)i, A61P31/00(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, A61P37/06(2006.01)i, A61P37/08(2006.01)i</p>											
<p>B. 調査を行った分野</p> <p>調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))</p> <p>Int.Cl. C12N15/00-15/90, A61K31/7088, A61K48/00, A61P29/00, A61P31/00, A61P35/00, A61P37/06, A61P37/08</p>											
<p>最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの</p> <table style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width:30%;">日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2017年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2017年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2017年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2017年	日本国実用新案登録公報	1996-2017年	日本国登録実用新案公報	1994-2017年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2017年										
日本国実用新案登録公報	1996-2017年										
日本国登録実用新案公報	1994-2017年										
<p>国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)</p> <p>JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CPlus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)</p>											
<p>C. 関連すると認められる文献</p>											
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号									
Y	WO 2014/148638 A1 (国立大学法人東京大学) 2014.09.25, 請求の範囲、段落 [0014]、[0042] - [0044] & US 2016/0046944 A、C l a i m s、段落 [0017]、[0062] - [0064] & EP 2977454 A1 & CA 2907636 A & KR 10-2015-0135409 A & CN 105264072 A	1-10									
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。		<input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。									
<p>* 引用文献のカテゴリー</p> <p>「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの</p> <p>「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの</p> <p>「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)</p> <p>「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</p> <p>「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願</p>		<p>の日の後に公表された文献</p> <p>「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</p> <p>「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの</p> <p>「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの</p> <p>「&」同一パテントファミリー文献</p>									
<p>国際調査を完了した日</p> <p style="text-align:center;">21.02.2017</p>		<p>国際調査報告の発送日</p> <p style="text-align:center;">28.02.2017</p>									
<p>国際調査機関の名称及びあて先</p> <p style="text-align:center;">日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号</p>		<p>特許庁審査官 (権限のある職員)</p> <p style="text-align:center;">西 賢二</p> <p>電話番号 03-3581-1101 内線 3488</p>	<p>4N</p>	<p>5803</p>							

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
P, Y	HARUTA, Kazuhiko et al., A Novel PEGylation Method for Improving the Pharmacokinetic Properties of Anti-Interleukin-17A RNA Aptamers, Nucleic Acid Ther., 2017, Vol. 27, pp. 36-44, Published online: 2016 Nov 9 A b s t r a c t、F I G. 1等	1-10
P, Y	平本真介 ほか, 新規PEG化方法による抗IL-17Aアプタマーの血中動態特性の改善, 第39回日本分子生物学会年会オンライン要旨, 2016.11.16, 1P-0795 全文	1-10
A	JP 2013-502218 A (バクスター・インターナショナル・インコーポレイテッド) 2013.01.24, & US 2011/0098345 A1 & WO 2011/022427 A1 & EP 2467167 A1 & KR 10-2012-0061086 A & CN 102869385 A	1-10
A	WO 2008/048079 A1 (POSTECH ACADEMY-INDUSTRY FOUNDATION) 2008.04.24, & US 2010/0261245 A1	1-10
A	JP 2006-516288 A (アーケミックス コーポレーション) 2006.06.29, & US 2004/0253243 A1 & WO 2004/064760 A2 & EP 1606301 A2 & CN 1984920 A	1-10