

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2022-520986
(P2022-520986A)

(43)公表日 令和4年4月4日(2022.4.4)

(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 7 6
A 6 1 K	31/7088(2006.01)	A 6 1 K	31/7088		4 C 0 8 4
A 6 1 K	31/712 (2006.01)	A 6 1 K	31/712		4 C 0 8 6
A 6 1 K	31/7125(2006.01)	A 6 1 K	31/7125		4 H 0 4 5
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全103頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2021-548688(P2021-548688)	(71)出願人	595104323
(86)(22)出願日	令和2年2月21日(2020.2.21)		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3年10月18日(2021.10.18)		Ionis Pharmaceuticals, Inc.
(86)国際出願番号	PCT/US2020/019272		アメリカ合衆国カリフォルニア州92010, カールズバッド, ガゼル コート 2855
(87)国際公開番号	WO2020/172559	(74)代理人	100118902
(87)国際公開日	令和2年8月27日(2020.8.27)		弁理士 山本 修
(31)優先権主張番号	62/809,492	(74)代理人	100106208
(32)優先日	平成31年2月22日(2019.2.22)		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
(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,		弁理士 松尾 淳一
	最終頁に続く	(74)代理人	100135415
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 A T X N 3 発現を減少させるための化合物及び方法

(57)【要約】

細胞または動物における A T X N 3 RNAの量または活性を減少させ、かつある特定の実施形態では、細胞または動物における A T X N 3 タンパク質の量を減少させるための化合物、方法、及び薬学的組成物が提供される。かかる化合物、方法、及び薬学的組成物は、神経変性疾患の少なくとも1つの症状または特徴の改善に有用である。かかる症状及び特徴には、運動機能障害、凝集形成、及び神経細胞死が含まれる。かかる神経変性疾患には、脊髄小脳性運動失調3型 (S C A 3) が含まれる。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

12～50個の結合され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、A T X N 3 核酸の等長部分に対して少なくとも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個の結合されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号11～172の核酸塩基配列のうちのいずれかの少なくとも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、少なくとも18、少なくとも19、または20個の隣接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、15、16、17、18、19、または20個の結合されたヌクレオシドからなり、配列番号11～172の核酸塩基配列のうちのいずれかの少なくとも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個の隣接する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、請求項1または請求項2に記載のオリゴマー化合物。

20

【請求項 4】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、18、19、または20個の結合されたヌクレオシドからなる、請求項3に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 5】

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全核酸塩基配列にわたって測定された場合、A T X N 3 核酸の等長部分に対して少なくとも90%、少なくとも95%、または100%相補的な核酸塩基配列を有する、請求項1～4のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 6】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、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20個の隣接する核酸塩基の一部分を含む核酸塩基配列を有し、前記一部分が、
配列番号2の核酸塩基6，597～6，619の等長部分、
配列番号2の核酸塩基15，664～15，689の等長部分、
配列番号2の核酸塩基19，451～19，476の等長部分、
配列番号2の核酸塩基30，448～30，473の等長部分、
配列番号2の核酸塩基32，940～32，961の等長部分、
配列番号2の核酸塩基34，013～34，039の等長部分、
配列番号2の核酸塩基37，151～37，172の等長部分、
配列番号2の核酸塩基43，647～43，674の等長部分、
配列番号2の核酸塩基46，389～46，411の等長部分、
配列番号2の核酸塩基46，748～46，785の等長部分、または
配列番号2の核酸塩基47，594～47，619の等長部分に対して相補的である、請求項1～5のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

30

40

【請求項 7】

前記A T X N 3 核酸が、配列番号1、2、または3のうちのいずれかの核酸塩基配列を有する、請求項1～6のいずれか1項に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 8】

50

前記修飾オリゴヌクレオチドが少なくとも1つの修飾糖部分を含む、請求項1～7のいずれか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少なくとも1つの二環式糖部分を含む、請求項8～10のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項10】

前記二環式糖部分が4'－2'架橋を有し、前記4'－2'架橋が $-2C=HO-$ 及び $-CH(CH_3)-O-$ から選択される、請求項9に記載のオリゴマー化合物。

【請求項11】

前記修飾オリゴヌクレオチドが少なくとも1つの非二環式修飾糖部分を含む、請求項8に記載のオリゴマー化合物。 10

【請求項12】

前記非二環式修飾糖部分が2'－MOE糖部分または2'－OMe糖部分のうちのいずれかである、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の各修飾ヌクレオシドが、2'－MOE糖部分または2'－OMe糖部分を含む非二環式修飾糖部分を含む、請求項12に記載のオリゴマー化合物。

【請求項14】

各修飾糖部分が2'－MOE糖部分である、請求項12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少なくとも1つの糖代替物を含む、請求項8～12のいずれかに記載のオリゴマー化合物。 20

【請求項16】

前記糖代替物が、モルホリノ、修飾モルホリノ、PNA、THP、及びF-HNAのうちのいずれかである、請求項15に記載のオリゴマー化合物。

【請求項17】

前記修飾オリゴヌクレオチドがギャップマーまたは改変ギャップマーである、請求項1～12及び15～16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、
1～6個の結合された5'ヌクレオシドからなる5'領域と、
6～10個の結合された中央領域ヌクレオシドからなる中央領域と、
1～5個の結合された3'ヌクレオシドからなる3'領域と、を含む糖モチーフを有し、前記5'領域ヌクレオシドの各々及び前記3'領域ヌクレオシドの各々が修飾糖部分を含み、前記中央領域ヌクレオシドの各々が2'－ β －D－デオキシリボシル糖部分を含む、請求項1～12及び15～17のいずれかに記載のオリゴマー化合物。 30

【請求項19】

前記修飾糖部分が2'－MOE糖部分である、請求項18に記載のオリゴマー化合物。

【請求項20】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、
各々2'－MOE糖部分を含む1～6個の結合された5'ヌクレオシドからなる5'領域と、
各々2'－MOE糖部分を含む1～5個の結合された3'ヌクレオシドからなる3'領域と、
6～10個の結合された中央領域ヌクレオシドからなる中央領域と、を含む糖モチーフを有し、前記中央領域ヌクレオシドのうちの1つが2'－O－メチル糖部分を含み、前記中央領域ヌクレオシドの残りが各々2'－ β －D－デオキシリボシル糖部分を含む、請求項1～12及び15～17のいずれかに記載のオリゴマー化合物。 40

【請求項21】

前記中央領域が(5'から3'に)以下の式： $(dN)(N_y)(Nd)_n$ を有し、式中、 N_y が2'－O－メチル糖部分を含むヌクレオシドであり、 N_d が各々2'－ β －D－デオキシリボシル糖部分を含むヌクレオシドであり、 n が10である、請求項20に記載のオリゴマー化合物。 50

Tがチミン核酸塩基であり、

50

e が 2' - MOE 糖部分であり、
 d が 2' - β - D - デオキシリボシル糖部分であり、
 s がホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり、
 o が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。

【請求項 34】

以下の化学表記法：

G e s m C e o m C e o A e o T e o T e o A d s A d s T d s m C d s T d s A d s T d s A d s m C d s T d s G e o A e s A e s T e (配列番号 137) に従う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、式中、

A がアデニン核酸塩基であり、

m C が 5 - メチルシトシン核酸塩基であり、

G がグアニン核酸塩基であり、

T がチミン核酸塩基であり、

e が 2' - MOE 糖部分であり、

d が 2' - β - D - デオキシリボシル糖部分であり、

s がホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり、

o が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。

10

【請求項 35】

以下の化学表記法：

G e s m C e o A e o T e o A e o T e o T d s G d s G d s T d s T d s T d s T d s m C d s T d s m C d s A e o T e s T e s T e (配列番号 50) に従う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、式中、

A がアデニン核酸塩基であり、

m C が 5 - メチルシトシン核酸塩基であり、

G がグアニン核酸塩基であり、

T がチミン核酸塩基であり、

e が 2' - MOE 糖部分であり、

d が 2' - β - D - デオキシリボシル糖部分であり、

s がホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり、

o が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。

20

30

【請求項 36】

前記オリゴマー化合物が一本鎖オリゴマー化合物である、請求項 1 ~ 35 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 37】

前記修飾オリゴヌクレオチドからなる、請求項 1 ~ 36 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 38】

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コンジュゲート基を含む、請求項 1 ~ 37 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 39】

前記コンジュゲート基が 1 ~ 3 個の G a l N A c リガンドを含む G a l N A c クラスターを含む、請求項 38 に記載のオリゴマー化合物。

40

【請求項 40】

前記コンジュゲートリンカーが単結合からなる、請求項 38 または請求項 39 に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 41】

前記コンジュゲートリンカーが切断可能である、請求項 38 に記載のオリゴマー化合物。

【請求項 42】

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チドを含む、請求項 38 に記載のオリゴマー化合物。

50

【請求項 43】

前記コンjugate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している、請求項38～42のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 44】

前記コンjugate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している、請求項38～42のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 45】

末端基を含む、請求項1～36または38～44のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【請求項 46】

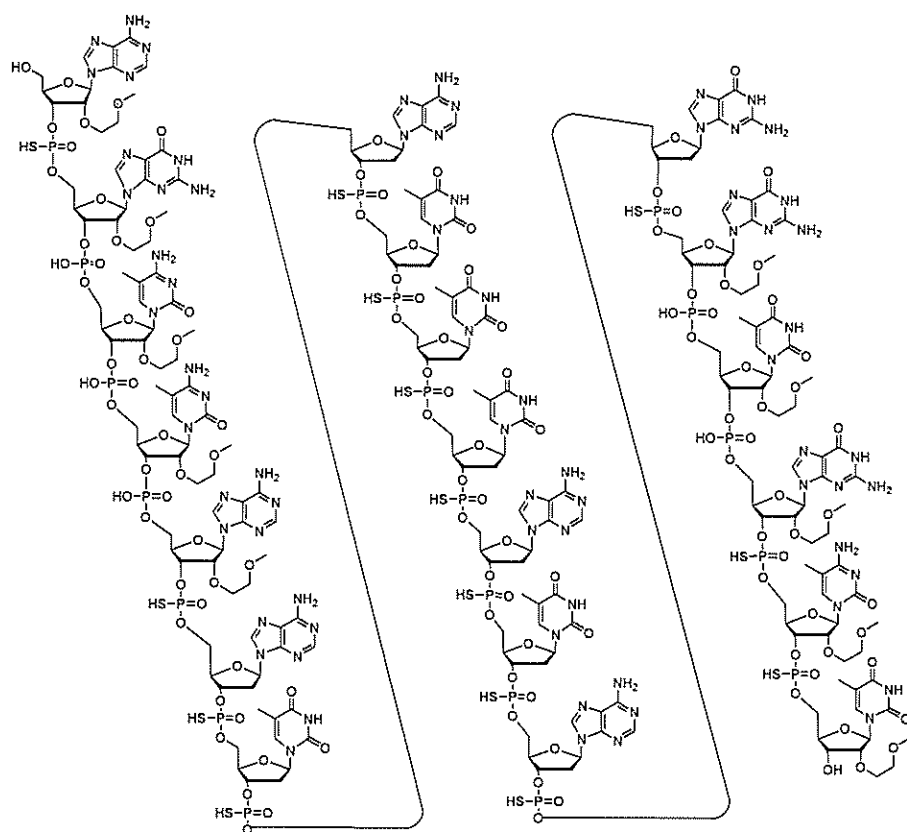
前記オリゴマー化合物がリンカーヌクレオシドを含まない、請求項1～41または43～45のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

10

【請求項 47】

以下の化学構造に従う修飾オリゴヌクレオチド、

【化1】



20

30

(配列番号：117),

またはその塩。

【請求項 48】

ナトリウム塩またはカリウム塩である、請求項47に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

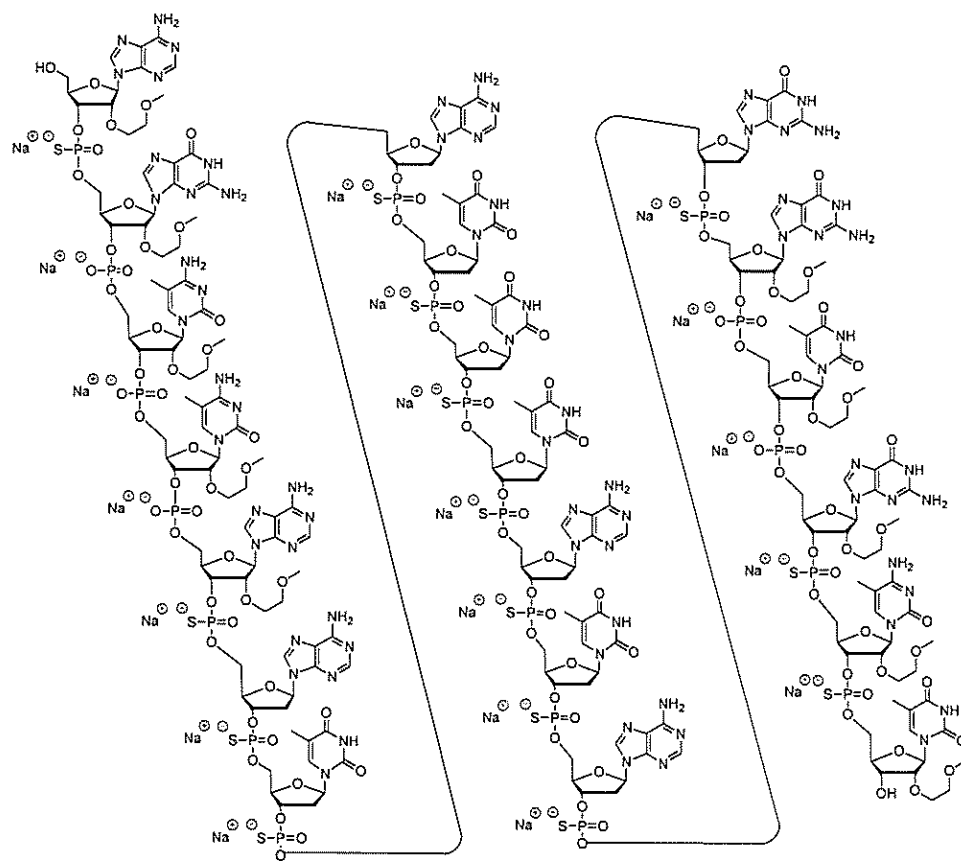
40

【請求項 49】

以下の式に従う修飾オリゴヌクレオチド。

50

【化 2】



(配列番号：117)

10

20

【請求項 50】

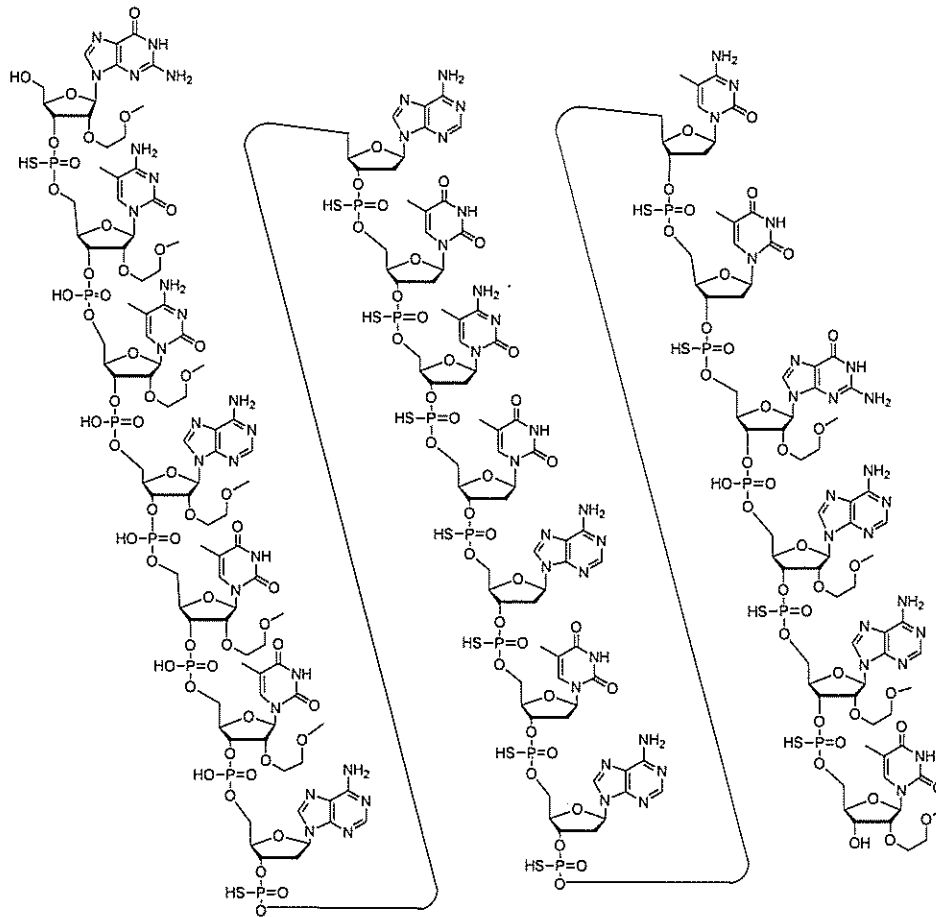
以下の式に従う修飾オリゴヌクレオチド、

30

40

50

【化 3】



またはその塩。

【請求項 5 1】

ナトリウム塩またはカリウム塩である、請求項 5 0 に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

【請求項 5 2】

以下の式に従う修飾オリゴヌクレオチド。

10

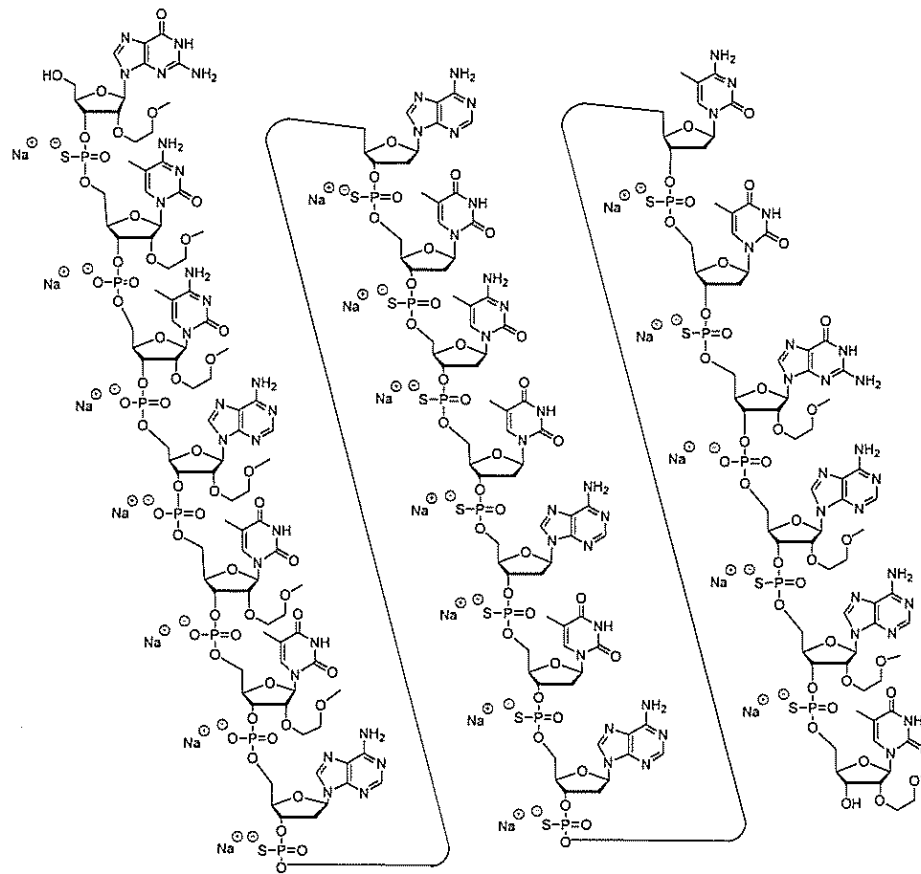
20

30

40

50

【化 4】



(配列番号: 137)

10

20

【請求項 53】

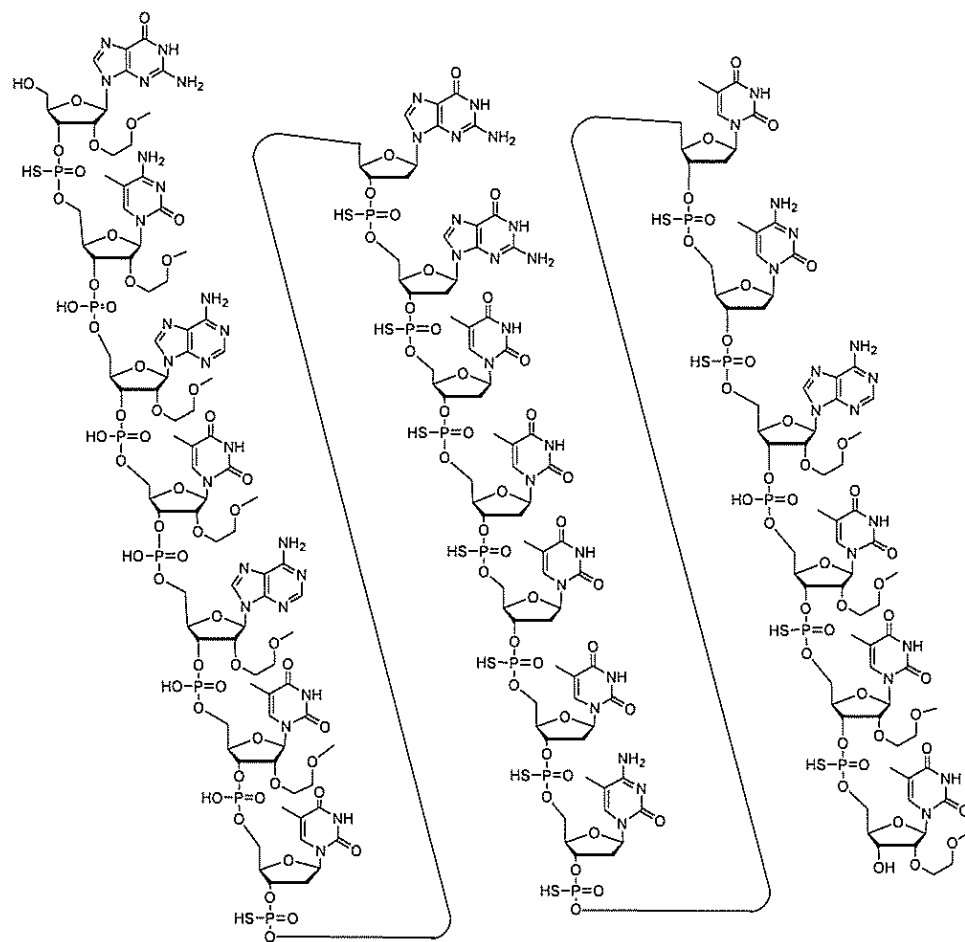
以下の式に従う修飾オリゴヌクレオチド、

30

40

50

【化 5】



10

20

またはその塩。

30

【請求項 5 4】

ナトリウム塩またはカリウム塩である、請求項 5 3 に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

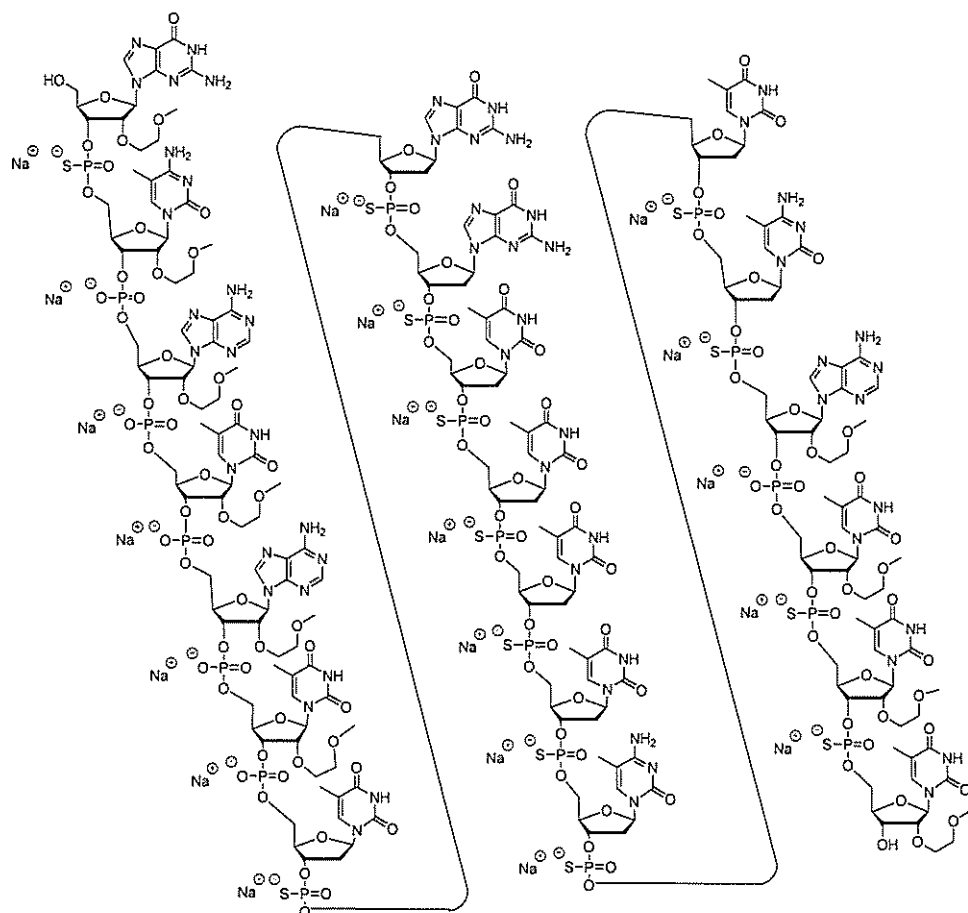
【請求項 5 5】

以下の式に従う修飾オリゴヌクレオチド。

40

50

【化 6】



(配列番号：50)

10

20

【請求項 56】

請求項 1～46 のいずれかに記載のオリゴマー化合物または請求項 47～55 のいずれかに記載の修飾オリゴヌクレオチドと、薬学的に許容される希釈剤または担体と、を含む、薬学的組成物。

30

【請求項 57】

薬学的に許容される希釈剤を含み、前記薬学的に許容される希釈剤が人工 C S F (a C S F) または P B S である、請求項 56 に記載の薬学的組成物。

【請求項 58】

前記薬学的組成物が前記修飾オリゴヌクレオチド及び人工 C S F (a C S F) から本質的になる、請求項 57 に記載の薬学的組成物。

【請求項 59】

前記薬学的組成物が前記修飾オリゴヌクレオチド及び P B S から本質的になる、請求項 57 に記載の薬学的組成物。

40

【請求項 60】

請求項 56～59 のいずれかに記載の修飾オリゴヌクレオチドのキラル濃縮集団であって、前記集団が、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修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている、前記キラル濃縮集団。

【請求項 61】

前記集団が、(S p) 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 60 に記載のキラル濃縮集団。

【請求項 62】

50

前記集団が、(R p) 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 60 に記載のキラル濃縮集団。

【請求項 63】

前記集団が、各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合に特定の独立して選択された立体化学的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 60 に記載のキラル濃縮集団。

【請求項 64】

前記集団が、各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合に (S p) 配置を有する修飾オリゴヌクレオチドについて、または各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合に (R p) 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 63 に記載のキラル濃縮集団。

10

【請求項 65】

前記集団が、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 (R p) 配置を有し、かつ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 (S p) 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 63 に記載のキラル濃縮集団。

【請求項 66】

前記集団が、5' から 3' の方向に、S p 配置、S p 配置、及び R p 配置で少なくとも 3 個の隣接するホスホロチオエートヌクレオシド間結合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 63 に記載のキラル濃縮集団。

20

【請求項 67】

前記修飾オリゴヌクレオチドの前記ホスホロチオエートヌクレオシド間結合が全てステレオランダムである、請求項 47～55 のいずれかに記載の修飾オリゴヌクレオチドの集団。

【請求項 68】

細胞におけるアタキシン 3 の発現を減少させる方法であって、前記細胞を、請求項 1～46 のいずれかに記載のオリゴマー化合物または請求項 47～55 のいずれかに記載の修飾オリゴヌクレオチドと接触させることを含む、前記方法。

【請求項 69】

アタキシン 3 RNA レベルが低下する、請求項 68 に記載の方法。

30

【請求項 70】

アタキシン 3 タンパク質レベルが低下する、請求項 68～69 のいずれかに記載の方法。

【請求項 71】

前記細胞がインビトロに存在する、請求項 68～69 のいずれかに記載の方法。

【請求項 72】

前記細胞が動物に存在する、請求項 68～69 のいずれかに記載の方法。

【請求項 73】

動物に、請求項 56～59 のいずれかに記載の薬学的組成物を投与することを含む、方法。

【請求項 74】

前記動物がヒトである、請求項 73 に記載の方法。

40

【請求項 75】

ATXN3 に関連する疾患を治療する方法であって、ATXN3 に関連する疾患を有するか、またはそれを発症するリスクのある個体に、請求項 56～59 に記載の薬学的組成物の治療有効量を投与し、それにより、前記 ATXN3 に関連する疾患を治療することを含む、前記方法。

【請求項 76】

前記 ATXN3 に関連する疾患が神経変性疾患である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 77】

前記神経変性疾患が SCA3 である、請求項 76 に記載の方法。

50

【請求項 78】

前記神経変性疾患の少なくとも1つの症状または特徴が改善される、請求項76に記載の方法。

【請求項 79】

前記症状または特徴が、運動失調、神経障害、及び凝集体形成である、請求項77に記載の方法。

【請求項 80】

前記薬学的組成物が中枢神経系または全身に投与される、請求項73～79のいずれかに記載の方法。

【請求項 81】

前記薬学的組成物が中枢神経系及び全身に投与される、請求項80に記載の方法。

【請求項 82】

前記薬学的組成物が、髄腔内、全身、皮下、または筋肉内のうちのいずれかに投与される、請求項73～79のいずれかに記載の方法。

【請求項 83】

細胞におけるアタキシン3の発現を減少させるための、請求項1～46のいずれかに記載のオリゴマー化合物または請求項47～55のいずれかに記載の修飾オリゴヌクレオチドの使用。

【請求項 84】

アタキシン3 RNAレベルが低下する、請求項83に記載の使用。

【請求項 85】

アタキシン3タンパク質レベルが低下する、請求項83に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

配列表

本出願は、電子形式で配列表とともに出願されている。配列表は、2019年2月20日に作成された208KBのサイズのBIOL0354WOSEQ__ST25.txtという名前のファイルとして提供される。この配列表の電子形式での情報は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0002】

細胞または動物におけるATXN3 RNAの量または活性を減少させ、かつある特定の事例では、細胞または動物におけるアタキシン-3タンパク質の量を減少させるための化合物、方法、及び薬学的組成物が提供される。かかる化合物、方法、及び薬学的組成物は、神経変性疾患の少なくとも1つの症状または特徴の改善に有用である。かかる症状及び特徴には、運動失調、神経障害、及び凝集体形成が含まれる。かかる神経変性疾患には、脊髄小脳性運動失調3型(SCA3)が含まれる。

【背景技術】

【0003】

脊髄小脳性運動失調3型(SCA3)、別名、マチャド・ジョセフ病(MJD)は、ATXN3遺伝子の変異によって引き起こされ、進行性小脳性運動失調、及びジストニア硬直症候群、パーキンソン症候群、またはジストニアと末梢神経障害との組み合わせ症候群を含む可変所見を特徴とする。SCA3は、常染色体優性様式で遺伝される。罹患した個体の子孫は、50%の確率で変異を受け継ぐ。SCA3の診断は、ATXN3における異常なCAGトリヌクレオチドリピート拡張を検出するための分子遺伝子学的検査の使用に依存する。罹患した個体は、52～86個のCAGトリヌクレオチドリピートを有する対立遺伝子を有する。かかる検査は、罹患した個体の100%を検出する。ATXN3遺伝子における拡張CAGリピートは、アタキシン-3タンパク質における拡張ポリグルタミンリピート(ポリQ)に翻訳され、この毒性アタキシン-3タンパク質は凝集体と会合している。これらの凝集体中のポリグルタミン拡張アタキシン-3タンパク質はユビキチン化

10

20

30

40

50

され、凝集体は熱ショックタンパク質及び転写因子を含む他のタンパク質を含有する。SCA3患者の脳組織に凝集体が頻繁に観察される。SCA3の管理は、疾患の経過を遅らせる薬剤が存在しないため、支持的であり、パーキンソニズムに似た下肢静止不能症候群及び錐体外路症候群は、レボドパまたはドーパミン作動薬に応答する可能性があり、痙縮、垂涎、及び睡眠障害は、リオレサル、アトロピン様薬、及び催眠剤に可変的に応答し、ボツリヌス毒素は、ジストニア及び痙縮に使用されており、日中の疲労は、モダフィニルなどの精神刺激薬に応答する可能性があり、それに伴う抑うつが治療されるべきである。Riess, O., Rub, U., Pastore, A. et al. Cerebellum (2008) 7:125。

【0004】

現在、SCA3などの神経変性疾患を治療するための許容される選択肢が不足している。したがって、かかる疾患を治療するための化合物、方法、及び薬学的組成物を提供することが本明細書における目的である。

【発明の概要】

【0005】

細胞または動物におけるATXN3 RNAの量または活性を減少させ、かつある特定の実施形態では、アタキシン-3タンパク質の量を減少させるための化合物、方法、及び薬学的組成物が本明細書に提供される。ある特定の実施形態では、動物は、神経変性疾患を有する。ある特定の実施形態では、動物は、SCA3を有する。ある特定の実施形態では、ATXN3 RNAの発現の減少に有用な化合物は、オリゴマー化合物である。ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、修飾オリゴヌクレオチドを含む。

【0006】

神経変性疾患の少なくとも1つの症状または特徴の改善に有用な方法も提供される。ある特定の実施形態では、神経変性疾患は、SCA3である。ある特定の実施形態では、症状及び特徴には、運動失調、神経障害、及び凝集体形成が含まれる。ある特定の実施形態では、これらの症状の改善は、運動機能の改善、神経障害の軽減、及び凝集体数の減少をもたらす。

【発明を実施するための形態】

【0007】

上記の概要及び以下の発明を実施するための形態はいずれも例示及び説明するためのものにすぎず、限定するものではないことを理解されたい。本明細書における単数形の使用は、別途具体的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場合、「または」の使用は、別途記述されない限り、「及び／または」を意味する。さらに、「含む (including)」という用語、ならびに「含む (includes)」及び「含まれる (included)」などの他の形態の使用は、限定するものではない。また、「要素」または「成分」などの用語は、別途具体的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と1つより多くのサブユニットを含む要素及び成分の両方を包含する。

【0008】

本明細書で使用される節の見出しは、構成上の目的にすぎず、記載の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及びNCBI参照配列記録を含むが、これらに限定されない、本明細書で引用される全ての文書、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ついて、かつそれらの全体として、参照により本明細書に明示的に組み込まれる。

【0009】

定義

特定の定義が提供されない限り、本明細書に記載の分析化学、有機合成化学、ならびに医薬的及び薬学的化学に関連して使用される命名法、ならびにそれらの手順及び技法は、当該技術分野で周知のものであり、一般的に使用されている。認められる場合、本開示全体にわたって参照される全ての特許、出願、公開された出願、ならびに他の出版物及び他のデータは、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

10

20

30

40

50

【0010】

別途指示されない限り、以下の用語は、以下の意味を有する。

本明細書で使用される場合、「2'-デオキシヌクレオシド」とは、2'-H (H) デオキシリボシル糖部分を含むヌクレオシドを意味する。ある特定の実施形態では、2'-デオキシヌクレオシドは、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、または非修飾2'-デオキシリボシル糖部分を含むヌクレオシドは、修飾核酸塩基を含み得るか、またはRNA核酸塩基 (ウラシル) を含み得る。

【0011】

本明細書で使用される場合、「2'-MOE」または「2'-MOE糖部分」とは、リボシル糖部分の2'-OH基の代わりに2'-OCH₂CH₂OCH₃基を意味する。「MOE」とは、メトキシエチルを意味する。別途指示されない限り、2'-MOE糖部分は、β-D配置にある。「MOE」とは、O-メトキシエチルを意味する。

【0012】

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

【0013】

本明細書で使用される場合、「2'-OMe」または「2'-O-メチル糖部分」とは、リボシル糖部分の2'-OH基の代わりに2'-OCH₃基を意味する。

【0014】

別途指示されない限り、2'-OMe糖部分は、β-D配置にある。「OMe」とは、O-メチルを意味する。

【0015】

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

【0017】

本明細書で使用される場合、「5-メチルシトシン」とは、5位に結合しているメチル基で修飾されたシトシンを意味する。5-メチルシトシンは、修飾された核酸塩基である。

【0018】

本明細書で使用される場合、「投与する」とは、動物に医薬品を提供することを意味する。

【0019】

本明細書で使用される場合、「動物」とは、ヒトまたは非ヒト動物を意味する。

【0020】

本明細書で使用される場合、「アンチセンス活性」とは、アンチセンス化合物のその標的核酸へのハイブリダイゼーションに起因する任意の検出可能及び／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。

【0021】

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

【0022】

本明細書で使用される場合、治療に関して「改善する」とは、少なくとも1つの症状の、その治療を行わ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

10

20

30

40

50

、改善は、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症状の重症度もしくは頻度の進行の遅延である。ある特定の実施形態では、症状または特徴は、運動失調、神経障害、及び凝集体形成である。ある特定の実施形態では、これらの症状の改善は、運動機能の改善、神経障害の軽減、または凝集体数の減少をもたらす。

【0023】

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

【0024】

本明細書で使用される場合、「二環式糖」または「二環式糖部分」とは、2つの環を含む修飾糖部分を意味し、ここで、第2の環が第1の環内の原子のうちの2つを結合する架橋を介して形成されており、これにより、二環式構造が形成される。ある特定の実施形態では、二環式糖部分の第1の環は、フラノシル部分である。ある特定の実施形態では、フラノシル部分は、リボシル部分である。ある特定の実施形態では、二環式糖部分は、フラノシル部分を含まない。

【0025】

本明細書で使用される場合、「脳脊髄液」または「CSF」とは、脳及び脊髄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。

【0026】

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

【0027】

本明細書で使用される場合、あるオリゴヌクレオチドに関して「相補的な」とは、そのオリゴヌクレオチドの核酸塩基またはその1つ以上の領域及び別の核酸の核酸塩基またはその1つ以上の領域の少なくとも70%が、そのオリゴヌクレオチドの核酸塩基配列及び別の核酸の核酸塩基配列を反対方向に整列させた場合に、互いに水素結合することができることを意味する。相補的な核酸塩基とは、互いに水素結合を形成することができる核酸塩基を意味する。相補的な核酸塩基対には、アデニン（A）及びチミン（T）、アデニン（A）及びウラシル（U）、シトシン（C）及びグアニン（G）、5-メチルシトシン（mC）及びグアニン（G）が含まれる。相補的なオリゴヌクレオチド及び／または核酸は、各ヌクレオシドに核酸塩基相補性を有する必要はない。むしろ、いくつかのミスマッチが許容される。本明細書で使用される場合、あるオリゴヌクレオチドまたはその一部分に関して「完全に相補的な」または「100%相補的な」とは、そのオリゴヌクレオチドまたはその一部が、そのオリゴヌクレオチドの各核酸塩基で別のオリゴヌクレオチドまたは核酸に対して相補的であることを意味する。

【0028】

本明細書で使用される場合、「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ている原子団を意味する。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を含む。

【0029】

本明細書で使用される場合、「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結合する少なくとも1つの結合を含む原子団を意味する。

【0030】

本明細書で使用される場合、「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ている原子団を意味する。

【0031】

本明細書で使用される場合、オリゴヌクレオチドとの関連での「隣接する」とは、互いに直接隣接したヌクレオシド、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、「隣接する核酸塩基」とは、配列内で互いに直接隣接した核酸塩基を意味する。

【0032】

本明細書で使用される場合、「拘束エチル」または「c E t」または「c E t 修飾糖」とは、 β -Dリボシル二環式糖部分を意味し、ここで、二環式糖の第2の環が β -Dリボシル糖部分の4'-炭素と2'-炭素とを結合する架橋を介して形成されており、この架橋は式4'-CH(CH₃)-O-2'を有し、この架橋のメチル基はS配置にある。

【0033】

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

【0034】

本明細書で使用される場合、「キラル濃縮集団」とは、同じ分子式を有する複数の分子を意味し、特定のキラル中心で特定の立体化学的配置を有する集団内の分子の数またはパーセンテージが、その特定のキラル中心がステレオランダムである場合、その集団内の同じ特定のキラル中心で同じ特定の立体化学的配置を有すると予想される分子の数またはパーセンテージを超える。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キラル中心を含み得る。ある特定の実施形態では、分子は、修飾オリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、分子は、修飾オリゴヌクレオチドを含む化合物である。

10

【0035】

本明細書で使用される場合、ヌクレオシド間結合に関して「キラル制御される」とは、その結合でのキラリティが特定の立体化学的配置について濃縮されることを意味する。

20

【0036】

本明細書で使用される場合、「ギャップマー」とは、1つ以上のヌクレオシドを有する外部領域間に位置付けられたRNAase H切断を支持する複数のヌクレオシドを有する内部領域を含む修飾オリゴヌクレオチドを意味し、内部領域を構成するヌクレオシドは外部領域を構成するヌクレオシド（複数可）とは化学的に異なる。内部領域は「ギャップ」と称される場合があり、外部領域は「ウィング」と称される場合がある。別途指示されない限り、「ギャップマー」とは、糖モチーフを指す。別途指示されない限り、ギャップの各ヌクレオシドの糖部分は、2'- β -D-デオキシリボシル糖部分である。したがって、「MOEギャップマー」という用語は、2'- β -D-デオキシヌクレオシドを含むギャップ及び2'-MOEヌクレオシドを含むウィングを有するギャップマーを示す。「改変ギャップマー」とは、（5'から3'に）ギャップの1、2、3、4、または5位に1つの2'-置換ヌクレオシドを有するギャップマーを意味する。別途指示されない限り、ギャップマー及び改変ギャップマーは、1つ以上の修飾ヌクレオシド間結合及び／または修飾核酸塩基を含み得、かかる修飾は、必ずしも糖修飾のギャップマーパターンに従うとは限らない。「混合ギャップマー」という用語は、2'- β -D-デオキシヌクレオシドを含むギャップ及び少なくとも2つの異なる糖修飾を含む修飾ヌクレオシドを含むウィングを含むギャップマーを示す。

30

【0037】

本明細書で使用される場合、「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低下の影響を受けやすい標的核酸上の核酸塩基の範囲である。

40

【0038】

本明細書で使用される場合、「ハイブリダイゼーション」とは、相補的な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。特定の機構に限定されないが、最も一般的なハイブリダイゼーション機構には水素結合が関与しており、これは、相補的な核酸塩基間のワトソン・クリック型、フーグスティーン型、または逆フーグスティーン型水素結合であり得る。

【0039】

本明細書で使用される場合、「ヌクレオシド間結合」とは、オリゴヌクレオチド中の隣接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場合、「修飾ヌクレオシド間結合」とは、ホスホジエステルヌクレオシド間結合以外の任意のヌクレオシド間結

50

合を意味する。「ホスホロチオエートヌクレオシド間結合」とは、ホスホジエステルヌクレオシド間結合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。

【0040】

本明細書で使用される場合、「リンカーヌクレオシド」とは、オリゴヌクレオチドをコンジュゲート部分に直接または間接的に結合するヌクレオシドを意味する。リンカーヌクレオシドは、オリゴマー化合物のコンジュゲートリンカー内に位置する。リンカーヌクレオシドは、オリゴヌクレオチドと隣接している場合でも、オリゴマー化合物のオリゴヌクレオチド部分の一部とはみなされない。

【0041】

本明細書で使用される場合、「非二環式修飾糖部分」とは、第2の環を形成するために糖の2つの原子間に架橋を形成しない、置換基などの修飾を有する修飾糖部分を意味する。

【0042】

本明細書で使用される場合、「ミスマッチ」または「非相補的な」とは、第1のオリゴマー化合物と第2のオリゴマー化合物を整列させた場合に第2のオリゴヌクレオチドまたは標的核酸の対応する核酸塩基と相補的ではない第1のオリゴヌクレオチドの核酸塩基を意味する。

【0043】

本明細書で使用される場合、「モチーフ」とは、オリゴヌクレオチド中の非修飾及び／または修飾糖部分、核酸塩基、及び／またはヌクレオシド間結合のパターンを意味する。

【0044】

本明細書で使用される場合、「神経変性疾患」とは、神経細胞死を含む、神経細胞の構造または機能の進行性喪失を特徴とする状態を意味する。ある特定の実施形態では、神経変性疾患は、脊髄小脳性運動失調3型（SCA3）である。

【0045】

本明細書で使用される場合、「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場合、「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場合、「修飾核酸塩基」とは、少なくとも1つの非修飾核酸塩基と対合することができる非修飾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。ユニバーサル塩基は、5つの非修飾核酸塩基のうちのいずれか1つと対合することができる修飾核酸塩基である。本明細書で使用される場合、「核酸塩基配列」とは、任意の糖またはヌクレオシド間結合修飾から独立した核酸またはオリゴヌクレオチドにおける隣接する核酸塩基の順序を意味する。

【0046】

本明細書で使用される場合、「ヌクレオシド」とは、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。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場合、「修飾ヌクレオシド」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シドを意味する。修飾ヌクレオシドには、核酸塩基を欠く脱塩基ヌクレオシドが含まれる。「結合されたヌクレオシド」とは、隣接する配列内で結合されたヌクレオシドである（すなわち、結合されたヌクレオシド間に追加のヌクレオシドが存在しない）。

【0047】

本明細書で使用される場合、「オリゴマー化合物」とは、オリゴヌクレオチド及び任意に1つ以上の追加の特徴、例えば、コンジュゲート基または末端基を意味する。オリゴマー化合物は、第1のオリゴマー化合物に対して相補的な第2のオリゴマー化合物と対合されても、対合されなくてもよい。「一本鎖オリゴマー化合物」とは、対合されていないオリゴマー化合物である。「オリゴマー二本鎖」という用語は、相補的な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た二本鎖を意味する。オリゴマー二本鎖の各オリゴマー化合物は、「二本鎖オリゴマー化合物」と称され得る。

10

20

30

40

50

【0048】

本明細書で使用される場合、「オリゴヌクレオチド」とは、ヌクレオシド間結合を介して結合された、結合されたヌクレオシドの鎖を意味し、ヌクレオシド及びヌクレオシド間結合は各々修飾されていても修飾されていなくてもよい。別途指示されない限り、オリゴヌクレオチドは、8～50個の結合されたヌクレオシドからなる。本明細書で使用される場合、「修飾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場合、「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。

【0049】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される担体または希釈剤」とは、動物への投与における使用に好適な任意の物質を意味する。ある特定のかかる担体は、薬学的組成物が、例えば、対象による経口摂取用の錠剤、丸剤、糖衣錠、カプセル剤、液剤、ゲル剤、シロップ剤、スラリー、懸濁剤、及びトローチ剤として製剤化されることを可能にする。ある特定の実施形態では、薬学的に許容される担体または希釈剤は、滅菌水、滅菌食塩水、滅菌緩衝溶液、または滅菌人工脳脊髄液である。

【0050】

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

【0051】

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

【0052】

本明細書で使用される場合、「リン部分」とは、リン原子を含む原子団を意味する。ある特定の実施形態では、リン部分は、一リン酸塩、二リン酸塩、もしくは三リン酸塩、またはホスホロチオエートを含む。

【0053】

本明細書で使用される場合、「プロドラッグ」とは、動物またはその細胞内で異なる形態に変換される、体外の形態の治療薬を意味する。典型的には、動物内でのプロドラッグの変換は、細胞もしくは組織中に存在する酵素（例えば、内因性酵素もしくはウイルス酵素）または化学物質の作用によって、及び／または生理学的条件によって促進される。

【0054】

本明細書で使用される場合、「量または活性を減少させるまたは阻害する」とは、未処理または対照試料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減少または遮断を意味し、必ずしも転写発現または活性の完全な消失を示すとは限らない。

【0055】

本明細書で使用される場合、「RNA」とは、RNA転写物を意味し、別途特定されない限り、プレmRNA及び成熟mRNAを含む。

【0056】

本明細書で使用される場合、「RNAi化合物」とは、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少なくとも部分的に、作用するアンチセンス化合物を意味する。RNAi化合物には、二本鎖siRNA、一本鎖RNA(ssRNA)、及びマイクロRNA模倣物を含むマイクロRNAが含まれるが、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を除外する。

【0057】

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

【0058】

本明細書で使用される場合、同一の分子式を有する分子の集団との関連での「ステレオランダム」または「ステレオランダムキラル中心」とは、ランダム立体化学的配置を有するキラル中心を意味する。例えば、ステレオランダムキラル中心を含む分子の集団において、ステレオランダムキラル中心の（S）配置を有する分子の数は、ステレオランダムキラル中心の（R）配置を有する分子の数と同じであり得るが、必ずしもそうであるとは限らない。キラル中心の立体化学的配置は、立体化学的配置を制御するように設計されていない合成方法の結果である場合、ランダムとみなされる。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。

10

【0059】

本明細書で使用される場合、「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場合、「非修飾糖部分」は、RNAに見られるような2'-OH（H）リボシル部分（「非修飾RNA糖部分」）、またはDNAに見られるような2'-H（H）デオキシリボシル糖部分（「非修飾DNA糖部分」）を意味する。別途指示されない限り、2'-OH（H）リボシル糖部分または2'-H（H）デオキシリボシル糖部分は、β-D配置にある。「MOE」とは、O-メトキシエチルを意味する。非修飾糖部分は、1'、3'、及び4'位の各々に1つの水素、3'位に1つの酸素、5'位に2つの水素を有する。本明細書で使用される場合、「修飾糖部分」または「修飾糖」とは、修飾フラノシル糖部分または糖代替物を意味する。

【0060】

本明細書で使用される場合、「糖代替物」とは、核酸塩基を別の基、例えば、オリゴヌクレオチド中のヌクレオシド間結合、コンジュゲート基、または末端基に結合することができるフラノシル部分以外を有する修飾糖部分を意味する。糖代替物を含む修飾ヌクレオシドは、オリゴヌクレオチド内の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、相補的な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できる。

【0061】

本明細書で使用される場合、「標準のインビボアッセイ」とは、実施例3に記載のアッセイ及びその合理的な変形を意味する。

30

【0062】

本明細書で使用される場合、「症状または特徴」とは、疾患または障害の存在または程度を示す任意の物理的特徴または検査結果を意味する。ある特定の実施形態では、症状は、対象またはその対象を検査または試験する医療専門家に明らかである。ある特定の実施形態では、特徴は、死後検査を含むが、これに限定されない侵襲的診断検査時に明らかになる。

【0063】

本明細書で使用される場合、「標的核酸」及び「標的RNA」とは、アンチセンス化合物が作用するように設計された核酸を意味する。

40

【0064】

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

【0065】

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

【0066】

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

50

【0067】

ある特定の実施形態

実施形態1. 12～50個の結合されたヌクレオシドからなる修飾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、A T X N 3核酸の等長部分に対して少なくとも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。

【0068】

実施形態2. 12～50個の結合されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号11～172の核酸塩基配列のうちのいずれかの少なくとも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、少なくとも18、少なくとも19、または20個の隣接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

【0069】

実施形態3. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、15、16、17、18、19、または20個の結合されたヌクレオシドからなり、配列番号11～172の核酸塩基配列のうちのいずれかの少なくとも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個の隣接する核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、実施形態1または実施形態2に記載のオリゴマー化合物。

20

【0070】

実施形態4. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、18、19、または20個の結合されたヌクレオシドからなる、実施形態3に記載のオリゴマー化合物。

【0071】

実施形態5. 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全核酸塩基配列にわたって測定された場合、A T X N 3核酸の等長部分に対して少なくとも90%、少なくとも95%、または100%相補的な核酸塩基配列を有する、実施形態1～4のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0072】

実施形態6. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、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20個の隣接する核酸塩基の一部分を含む核酸塩基配列を有し、前記一部分が、

30

配列番号2の核酸塩基6, 597～6, 619の等長部分、

配列番号2の核酸塩基15, 664～15, 689の等長部分、

配列番号2の核酸塩基19, 451～19, 476の等長部分、

配列番号2の核酸塩基30, 448～30, 473の等長部分、

配列番号2の核酸塩基32, 940～32, 961の等長部分、

配列番号2の核酸塩基34, 013～34, 039の等長部分、

配列番号2の核酸塩基37, 151～37, 172の等長部分、

配列番号2の核酸塩基43, 647～43, 674の等長部分、

配列番号2の核酸塩基46, 389～46, 411の等長部分、

配列番号2の核酸塩基46, 748～46, 785の等長部分、または

配列番号2の核酸塩基47, 594～47, 619の等長部分に対して相補的である、実施形態1～5のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

40

【0073】

実施形態7. 前記A T X N 3核酸が、配列番号1、2、または3のうちのいずれかの核酸塩基配列を有する、実施形態1～6のいずれか1つに記載のオリゴマー化合物。

【0074】

50

実施形態 8. 前記修飾オリゴヌクレオチドが少なくとも 1 つの修飾糖部分を含む、実施形態 1 ~ 7 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0075】

実施形態 9. 前記修飾オリゴヌクレオチドが少なくとも 1 つの二環式糖部分を含む、実施形態 8 ~ 10 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0076】

実施形態 10. 前記二環式糖部分が 4' - 2' 架橋を有し、前記 4' - 2' 架橋が $-2C-H$ $O-$ 及び $-CH(CH_3)-O-$ から選択される、実施形態 9 に記載のオリゴマー化合物。

【0077】

実施形態 11. 前記修飾オリゴヌクレオチドが少なくとも 1 つの非二環式修飾糖部分を含む、実施形態 8 に記載のオリゴマー化合物。

【0078】

実施形態 12. 前記非二環式修飾糖部分が 2' - MOE 糖部分または 2' - OMe 糖部分のうちのいずれかである、実施形態 11 に記載のオリゴマー化合物。

【0079】

実施形態 13. 前記修飾オリゴヌクレオチドの各修飾ヌクレオシドが、2' - MOE 糖部分または 2' - OMe 糖部分を含む非二環式修飾糖部分を含む、実施形態 12 に記載のオリゴマー化合物。

【0080】

実施形態 14. 各修飾糖部分が 2' - MOE 糖部分である、実施形態 12 に記載のオリゴマー化合物。

【0081】

実施形態 15. 前記修飾オリゴヌクレオチドが少なくとも 1 つの糖代替物を含む、実施形態 8 ~ 12 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0082】

実施形態 16. 前記糖代替物が、モルホリノ、修飾モルホリノ、PNA、THP、及び F-HNA のうちのいずれかである、実施形態 15 に記載のオリゴマー化合物。

【0083】

実施形態 17. 前記修飾オリゴヌクレオチドがギャップマーまたは改変ギャップマーである、実施形態 1 ~ 12 及び 15 ~ 16 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0084】

実施形態 18. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、
1 ~ 6 個の結合された 5' ヌクレオシドからなる 5' 領域と、
6 ~ 10 個の結合された中央領域ヌクレオシドからなる中央領域と、
1 ~ 5 個の結合された 3' ヌクレオシドからなる 3' 領域と、を含む糖モチーフを有し、前記 5' 領域ヌクレオシドの各々及び前記 3' 領域ヌクレオシドの各々が修飾糖部分を含み、前記中央領域ヌクレオシドの各々が 2' - β - D - デオキシリボシル糖部分を含む、実施形態 1 ~ 12 及び 15 ~ 17 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0085】

実施形態 19. 前記修飾糖部分が 2' - MOE 糖部分である、実施形態 18 に記載のオリゴマー化合物。

【0086】

実施形態 20. 前記修飾オリゴヌクレオチドが、
各々 2' - MOE 糖部分を含む 1 ~ 6 個の結合された 5' ヌクレオシドからなる 5' 領域と、
各々 2' - MOE 糖部分を含む 1 ~ 5 個の結合された 3' ヌクレオシドからなる 3' 領域と、
6 ~ 10 個の結合された中央領域ヌクレオシドからなる中央領域と、を含む糖モチーフを有し、前記中央領域ヌクレオシドのうちの 1 つが 2' - O - メチル糖部分を含み、前記中央領域ヌクレオシドの残りが各々 2' - β - D - デオキシリボシル糖部分を含む、実施形態 1 ~ 12 及び 15 ~ 17 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

10

20

30

40

50

50

d s T d s T d s T d s A d s T d s A d s G d s G e o T e o G e s^m C e s T e (配列番号 117) に従う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、式中、
 A がアデニン核酸塩基であり、
 mC が 5-メチルシトシン核酸塩基であり、
 G がグアニン核酸塩基であり、
 T がチミン核酸塩基であり、
 e が 2'-MOE 糖部分であり、
 d が 2'-β-D-デオキシリボシル糖部分であり、
 s がホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり、
 o が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。
 【0100】

10

実施形態 34. 以下の化学表記法：

G e s^m C e o^m C e o A e o T e o T e o A d s A d s T d s^m C d s T d s A d s T d s A d s^m C d s T d s G e o A e s A e s T e (配列番号 137) に従う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、式中、
 A がアデニン核酸塩基であり、
 mC が 5-メチルシトシン核酸塩基であり、
 G がグアニン核酸塩基であり、
 T がチミン核酸塩基であり、
 e が 2'-MOE 糖部分であり、
 d が 2'-β-D-デオキシリボシル糖部分であり、
 s がホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり、
 o が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】

20

実施形態 35. 以下の化学表記法：

G e s^m C e o A e o T e o A e o T e o T d s G d s G d s T d s T d s T d s T d s^m C d s T d s^m C d s A e o T e s T e s T e (配列番号 50) に従う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、式中、
 A がアデニン核酸塩基であり、
 mC が 5-メチルシトシン核酸塩基であり、
 G がグアニン核酸塩基であり、
 T がチミン核酸塩基であり、
 e が 2'-MOE 糖部分であり、
 d が 2'-β-D-デオキシリボシル糖部分であり、
 s がホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり、
 o が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。
 【0102】

30

実施形態 36. 前記オリゴマー化合物が一本鎖オリゴマー化合物である、実施形態 1～35 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

40

【0103】

実施形態 37. 前記修飾オリゴヌクレオチドからなる、実施形態 1～36 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0104】

実施形態 38. 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コンジュゲート基を含む、実施形態 1～37 のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0105】

実施形態 39. 前記コンジュゲート基が 1～3 個の G a l N A c リガンドを含む G a l N A c クラスターを含む、実施形態 38 に記載のオリゴマー化合物。

【0106】

実施形態 40. 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 38 または 39

50

に記載のオリゴマー化合物。

【0107】

実施形態41．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38に記載のオリゴマー化合物。

【0108】

実施形態42．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38に記載のオリゴマー化合物。

【0109】

実施形態43．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している、実施形態38～42のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

10

【0110】

実施形態44．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している、実施形態38～42のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0111】

実施形態45．末端基を含む、実施形態1～36または38～44のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

【0112】

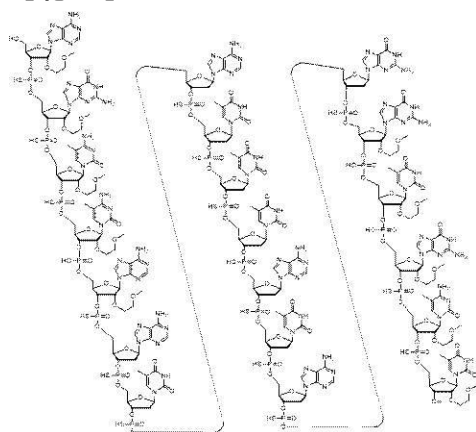
実施形態46．前記オリゴマー化合物がリンカーヌクレオシドを含まない、実施形態1～41または43～45のいずれかに記載のオリゴマー化合物。

20

【0113】

実施形態47．以下の化学構造に従う修飾オリゴヌクレオチド、

【化1】



30

(配列番号117)

またはその塩。

【0114】

実施形態48．ナトリウム塩またはカリウム塩である、実施形態47に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

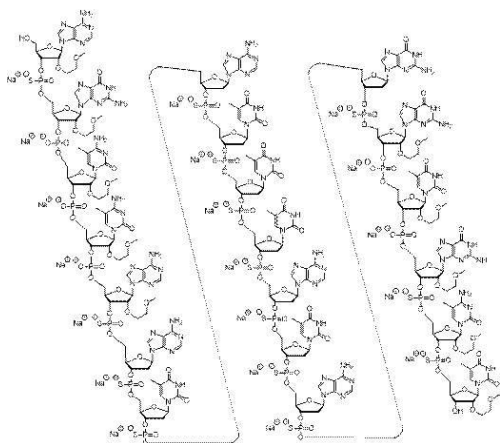
40

【0115】

実施形態49．以下の式に従う修飾オリゴヌクレオチド。

50

【化 2】



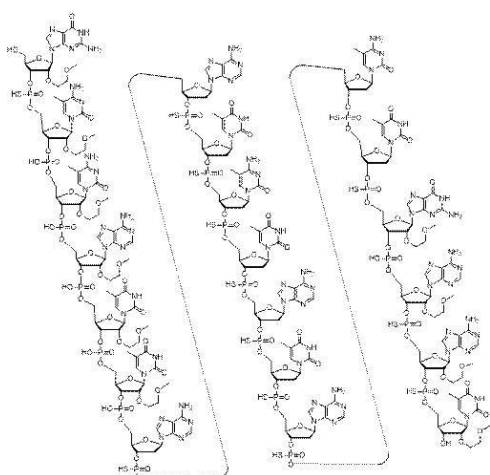
10

(配列番号 1 1 7)

【0 1 1 6】

実施形態 5 0 . 以下の式に従う修飾オリゴヌクレオチド、

【化 3】



20

30

(配列番号 1 3 7)

またはその塩。

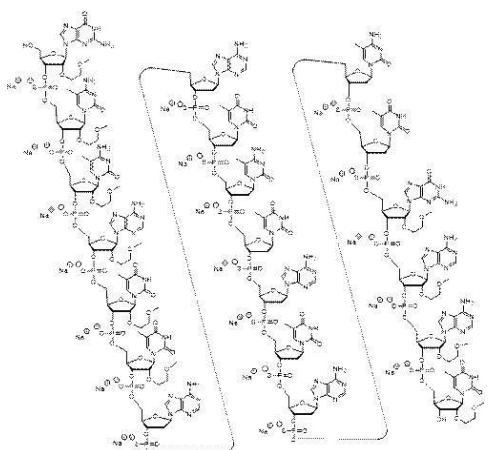
【0 1 1 7】

実施形態 5 1 . ナトリウム塩またはカリウム塩である、実施形態 5 0 に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

【0 1 1 8】

実施形態 5 2 . 以下の式に従う修飾オリゴヌクレオチド。

【化 4】



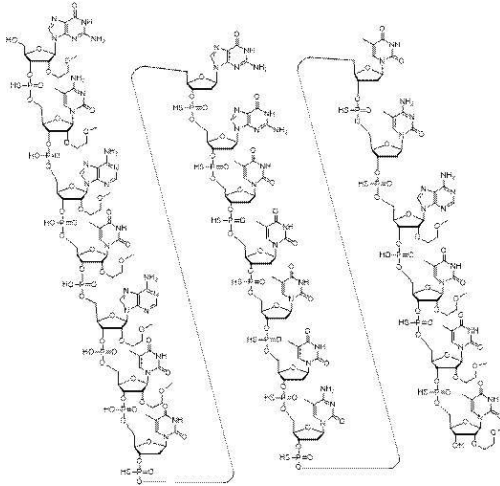
40

50

(配列番号 1 3 7)

【0 1 1 9】

実施形態 5 3 . 以下の式に従う修飾オリゴヌクレオチド、
【化 5】



10

(配列番号 5 0)

またはその塩。

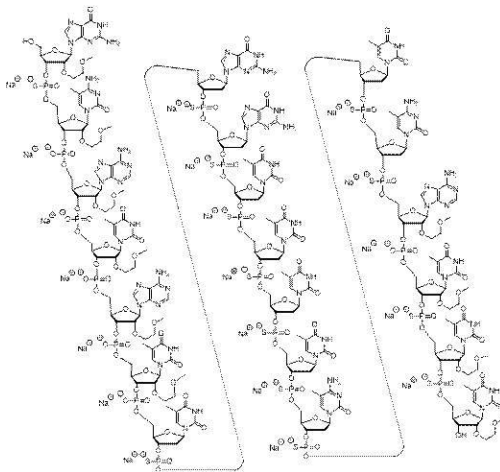
【0 1 2 0】

実施形態 5 4 . ナトリウム塩またはカリウム塩である、実施形態 5 3 に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

【0 1 2 1】

実施形態 5 5 . 以下の式に従う修飾オリゴヌクレオチド。

【化 6】



30

(配列番号 5 0)

【0 1 2 2】

実施形態 5 6 . 実施形態 1 ～ 4 6 のいずれかに記載のオリゴマー化合物または実施形態 4 7 ～ 5 5 のいずれかに記載の修飾オリゴヌクレオチドと、薬学的に許容される希釈剤または担体と、を含む、薬学的組成物。

【0 1 2 3】

実施形態 5 7 . 薬学的に許容される希釈剤を含み、前記薬学的に許容される希釈剤が人工 C S F (a C S F) または P B S である、実施形態 5 6 に記載の薬学的組成物。

【0 1 2 4】

実施形態 5 8 . 前記薬学的組成物が前記修飾オリゴヌクレオチド及び人工 C S F (a C S F) から本質的になる、実施形態 5 7 に記載の薬学的組成物。

50

【0125】

実施形態59．前記薬学的組成物が前記修飾オリゴヌクレオチド及びPBSから本質的になる、実施形態57に記載の薬学的組成物。

【0126】

実施形態60．実施形態56～59のいずれかに記載の修飾オリゴヌクレオチドのキラル濃縮集団であって、前記集団が、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修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている、前記キラル濃縮集団。

【0127】

実施形態61．前記集団が、(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60に記載のキラル濃縮集団。

10

【0128】

実施形態62．前記集団が、(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60に記載のキラル濃縮集団。

【0129】

実施形態63．前記集団が、各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合に特定の独立して選択された立体化学的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60に記載のキラル濃縮集団。

20

【0130】

実施形態64．前記集団が、各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合に(Sp)配置を有する修飾オリゴヌクレオチドについて、または各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合に(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63に記載のキラル濃縮集団。

【0131】

実施形態65．前記集団が、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(Rp)配置を有し、かつ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(Sp)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63に記載のキラル濃縮された集団。

30

【0132】

実施形態66．前記集団が、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個の隣接するホスホロチオエートヌクレオシド間結合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63に記載のキラル濃縮集団。

【0133】

実施形態67．前記修飾オリゴヌクレオチドの前記ホスホロチオエートヌクレオシド間結合が全てステレオランダムである、実施形態47～55のいずれかに記載の修飾オリゴヌクレオチドの集団。

【0134】

実施形態68．細胞におけるアタキシン3の発現を減少させる方法であって、前記細胞を、実施形態1～46のいずれかに記載のオリゴマー化合物または実施形態47～55のいずれかに記載の修飾オリゴヌクレオチドと接触させることを含む、前記方法。

40

【0135】

実施形態69．アタキシン3RNAレベルが低下する、実施形態68に記載の方法。

【0136】

実施形態70．アタキシン3タンパク質レベルが低下する、実施形態68～69のいずれかに記載の方法。

【0137】

実施形態71．前記細胞がインビトロに存在する、実施形態68～69のいずれかに記載の方法。

50

【0138】

実施形態72．前記細胞が動物内に存在する、実施形態68～69のいずれかに記載の方法。

【0139】

実施形態73．動物に、実施形態56～59のいずれかに記載の薬学的組成物を投与することを含む、方法。

【0140】

実施形態74．前記動物がヒトである、実施形態73に記載の方法。

【0141】

実施形態75．ATXN3に関連する疾患を治療する方法であって、ATXN3に関連する疾患を有するか、またはそれを発症するリスクのある個体に、実施形態56～59に記載の薬学的組成物の治療有効量を投与し、それにより、前記ATXN3に関連する疾患を治療することを含む、前記方法。

10

【0142】

実施形態76．前記ATXN3に関連する疾患が神経変性疾患である、実施形態75に記載の方法。

【0143】

実施形態77．前記神経変性疾患がSCA3である、実施形態76に記載の方法。

【0144】

実施形態78．前記神経変性疾患の少なくとも1つの症状または特徴が改善される、実施形態76に記載の方法。

20

【0145】

実施形態79．前記症状または特徴が、運動失調、神経障害、及び凝集体形成である、実施形態77に記載の方法。

【0146】

実施形態80．前記薬学的組成物が中枢神経系または全身に投与される、実施形態73～79のいずれかに記載の方法。

【0147】

実施形態81．前記薬学的組成物が中枢神経系及び全身に投与される、実施形態80に記載の方法。

30

【0148】

実施形態82．前記薬学的組成物が、髄腔内、全身、皮下、または筋肉内のうちのいずれかに投与される、実施形態73～79のいずれかに記載の方法。

【0149】

実施形態83．細胞におけるアタキシン3の発現を減少させるための、実施形態1～46のいずれかに記載のオリゴマー化合物または実施形態47～55のいずれかに記載の修飾オリゴヌクレオチドの使用。

【0150】

実施形態84．アタキシン3RNAレベルが低下する、実施形態83に記載の使用。

【0151】

実施形態85．アタキシン3タンパク質レベルが低下する、実施形態83に記載の使用。

40

【0152】

I．ある特定のオリゴヌクレオチド

ある特定の実施形態では、結合されたヌクレオシドからなるオリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物が本明細書で提供される。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)であってもよく、または修飾オリゴヌクレオチドであってもよい。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1つ以上の修飾ヌクレオシド間結合を含む。

50

【0153】

A. ある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を含むか、または修飾糖部分及び修飾核酸塩基の両方を含む。

【0154】

1. ある特定の糖部分

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、糖代替物である。かかる糖代替物は、他のタイプの修飾糖部分の置換に対応する1つ以上の置換を含み得る。

10

【0155】

ある特定の実施形態では、修飾糖部分は、いずれもフラノシル環の2つの原子を架橋して二環式構造を形成しない1つ以上の置換基を有するフラノシル環を含む非二環式修飾糖部分である。かかる非架橋置換基は、2'、4'、及び／または5'位の置換基を含むが、これらに限定されない、フラノシルの任意の位置にあり得る。ある特定の実施形態では、非二環式修飾糖部分の1つ以上の非架橋置換基は分岐している。非二環式修飾糖部分に好適な2'-置換基の例には、2'-F、2'-OCH₃（「OMe」または「O-メチル」）、及び2'-O(CH₂)₂OCH₃（「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、R_m及びR_nは各々独立して、H、アミノ保護基、または置換もしくは非置換C₁-C₁₀アルキルであり、2'-置換基は、Cook et al., U. S. 6, 531, 584、Cook et al., U. S. 5, 859, 221、及びCook et al., U. S. 6, 005, 087に記載されている。これらの2'-置換基のある特定の実施形態は、ヒドロキシル、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、ベンジル、フェニル、ニトロ(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好適な4'-置換基の例には、アルコキシ（例えば、メトキシ）、アルキル、及びManoharan et al., WO 2015/106128に記載の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好適な5'-置換基の例には、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、1つより多くの非架橋糖置換基、例えば、2'-F-5'-メチル糖部分、ならびにMigawa et al., 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を含む。

20

30

40

【0156】

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)、ON(CH₃)₂、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、R_m及びR_nは各々独立して、H、アミノ保護基、または置換もしくは非置換C₁-C₁₀アルキルである。

【0157】

50

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、 OCF_3 、 OCH_3 、 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{SCH}_3$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{ON}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、及び $\text{OCH}_2\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{H})\text{CH}_3$ （「NMA」）から選択される非架橋2'-置換基を含む糖部分を含む。

【0158】

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、 OCH_3 、及び $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ から選択される非架橋2'-置換基を含む糖部分を含む。

【0159】

ある特定の修飾糖部分は、フラノシル環の2つの原子を架橋して第2の環を形成し、二環式糖部分をもたらす置換基を含む。ある特定のかかる実施形態では、二環式糖部分は、4'-フラノース環原子と2'-フラノース環原子との間に架橋を含む。かかる4'-2'架橋糖置換基の例には、4'- CH_2-2' 、4'- $(\text{CH})_2-2'$ 、4'- $(\text{CH})_3-2'$ 、4'- $\text{CH}_2-\text{O}-2'$ （「LNA」）、4'- $\text{CH}-\text{S}-2'$ 、4'- $(\text{CH})_2-\text{O}-2'$ （「ENA」）、4'- $\text{CH}(\text{CH})-\text{O}-2'$ （「拘束エチル」または「cEt」と称される）、4'- $\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-2'$ 、4'- $\text{CH}-\text{N}(\text{R})-2'$ 、4'- $\text{CH}(\text{CH}_2\text{OCH}_3)-\text{O}-2'$ （「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を参照のこと）、4'- $\text{C}(\text{CH}_3)(\text{CH}_3)-\text{O}-2'$ 及びその類似体（例えば、Seth et al., U. S. 8, 278, 283を参照のこと）、4'- $\text{CH}_2-\text{N}(\text{OCH}_3)-2'$ 及びその類似体（例えば、Prakash et al., U. S. 8, 278, 425を参照のこと）、4'- $\text{CH}_2-\text{O}-\text{N}(\text{CH}_3)-2'$ （例えば、Allerson et al., U. S. 7, 696, 345及びAllerson et al., U. S. 8, 124, 745を参照のこと）、4'- $\text{CH}_2-\text{C}(\text{H})(\text{CH}_3)-2'$ （例えば、Zhou, et al., J. Org. Chem., 2009, 74, 118-134を参照のこと）、4'- $\text{CH}_2-\text{C}(=\text{CH}_2)-2'$ 及びその類似体（例えば、Seth et al., U. S. 8, 278, 426を参照のこと）、4'- $\text{C}(\text{R}_a\text{R}_b)-\text{N}(\text{R})-\text{O}-2'$ 、4'- $\text{C}(\text{R}_a\text{R}_b)-\text{O}-\text{N}(\text{R})-2'$ 、4'- $\text{CH}-\text{O}-\text{N}(\text{R})-2'$ 、ならびに4'- $\text{CH}-\text{N}(\text{R})-\text{O}-2'$ が挙げられるが、これらに限定されず、式中、R、 R_a 、及び R_b は各々独立してH、保護基、または C_{1-12} アルキルである（例えば、Imanishi et al., U. S. 7, 427, 672を参照のこと）。

【0160】

ある特定の実施形態では、かかる4'-2'架橋は独立して、 $-\text{C}(\text{R})_n-$ 、 $-\text{C}(\text{R}_a)(\text{R}_b)_n-\text{O}-$ 、 $-\text{C}(\text{R}_a)=\text{C}(\text{R}_b)-$ 、 $-\text{C}(\text{R}_a)=\text{N}-$ 、 $-\text{C}(=\text{NR}_a)-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{C}(=\text{S})-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{Si}(\text{R}_a)_2-$ 、 $-\text{S}(=\text{O})_x-$ 、及び $-\text{N}(\text{R}_a)-$ から独立して選択される1~4つの結合された基を含み、

式中、

xは、0、1、または2であり、

nは、1、2、3、または4であり、

R_a 及び R_b は各々独立して、H、保護基、ヒドロキシル、 C_{1-12} アルキル、置換 C_{1-12} アルキル、 C_2-C_{12} アルケニル、置換 C_2-C_{12} アルケニル、 C_2-C_{12} アルキニル、置換 C_2-C_{12} アルキニル、 C_5-C_{20} アリール、置換 C_5-C_{20} アリール、複素環ラジカル、置換複素環ラジカル、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、 C_5-C_7 脂環式ラジカル、置換 C_5-C_7 脂環式ラジカル、ハロゲン、 OJ_1 、 NJ_1J_2 、 SJ_1 、 N_3 、 COOJ_1 、アシル（ $\text{C}(=\text{O})-\text{H}$ ）、置換アシル、 CN 、スルホニル（ $\text{S}(=\text{O})_2-\text{J}_1$ ）、またはスルホキシル（ $\text{S}(=\text{O})-\text{J}_1$ ）であり、 J_1 及び J_2 は各々独立して、H、 C_{1-12} アルキル、置換 C_{1-12} アルキル、

10

20

30

40

50

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。

【0161】

追加の二環式糖部分は当該技術分野で既知であり、例えば、Freier et al., Nucleic Acids Research, 1997, 25 (22), 4429-4443、Albaek et al., J. Org. Chem., 2006, 71, 7731-7740、Singh et al., Chem. Commun., 1998, 4, 455-456、Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630、Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222、Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039、Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc., 2007, 129, 8362-8379、Wengel et al., U. S. 7, 053, 207、Imanishi et al., U. S. 6, 268, 490、Imanishi et al., U. S. 6, 770, 748、Imanishi et al., U. S. RE44, 779、Wengel et al., U. S. 6, 794, 499、Wengel et al., U. S. 6, 670, 461、Wengel et al., U. S. 7, 034, 133、Wengel et al., U. S. 8, 080, 644、Wengel et al., U. S. 8, 034, 909、Wengel et al., U. S. 8, 153, 365、Wengel et al., U. S. 7, 572, 582、及び Ramasamy et al., U. S. 6, 525, 191、Torsten et al., WO2004/106356、Wengel et al., WO1999/014226、Seth et al., WO2007/134181、Seth et al., U. S. 7, 547, 684、Seth et al., U. S. 7, 666, 854、Seth et al., U. S. 8, 088, 746、Seth et al., U. S. 7, 750, 131、Seth et al., U. S. 8, 030, 467、Seth et al., U. S. 8, 268, 980、Seth et al., U. S. 8, 546, 556、Seth et al., U. S. 8, 530, 640、Migawa et al., U. S. 9, 012, 421、Seth et al., U. S. 8, 501, 805、ならびに米国特許公開第US2008/0039618号 (Allerson et al.) 及び同第US2015/0191727号 (Migawa et al.) を参照されたい。

10

20

30

【0162】

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導入するヌクレオシドは、異性体配置によってさらに定義されている。例えば、LNAヌクレオシド (本明細書に記載される) は、 α -L配置または β -D配置にあり得る。

【化7】



LNA (β -D-配置) 架橋=4'-CH₂-O-2'
 α -L-LNA (α -L-配置) 架橋=4'-CH₂-O-2'

40

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す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)。本明細書において、二環式ヌクレオシドの概要は、両方の異性体配置を含む。特定の二環式ヌクレオシド (例えば、LNAまたはcEt) の位置が本明細

50

書の例証される実施形態で特定される場合、それらは、別途特定されない限り、 β -D 配置にある。

【0163】

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及び1つ以上の架橋糖置換（例えば5'-置換及び4'-2'架橋糖）を含む。

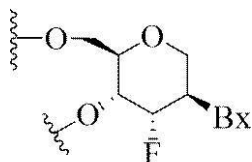
【0164】

ある特定の実施形態では、修飾糖部分は、糖代替物である。ある特定のかかる実施形態では、糖部分の酸素原子は、例えば、硫黄、炭素、または窒素原子で置き換えられる。ある特定のかかる実施形態では、かかる修飾糖部分は、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、ある特定の糖代替物は、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 を参照のこと）及び／または5'位での置換を含む。

【0165】

ある特定の実施形態では、糖代替物は、5つ以外の原子を有する環を含む。例えば、ある特定の実施形態では、糖代替物は、6員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、さらに修飾または置換され得る。かかる修飾テトラヒドロピランを含むヌクレオシドには、ヘキシトール核酸（「HNA」）、アニトール核酸（「ANA」）、マンニトール核酸（「MNA」）（例えば、Leumann, C J. Bioorg. & Med. Chem. 2002, 10, 841-854 を参照のこと）、フルオロ HNA :

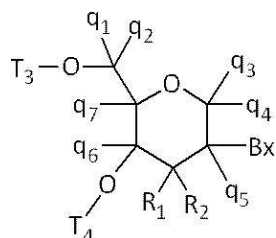
【化8】



F-HNA

（「F-HNA」、例えば、Swayze et al., U. S. 8, 088, 904、Swayze et al., U. S. 8, 440, 803、Swayze et al., U. S. 8, 796, 437、及び Swayze et al., U. S. 9, 005, 906 を参照のこと、F-HNA は F-THP または 3'-フルオロテトラヒドロピランとも称され得る）、及び以下の式を有する追加の修飾 THP 化合物を含むヌクレオシドが含まれるが、これらに限定されず、

【化9】



式中、前述の修飾 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 の一方が修飾 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 の他方が、H、ヒドロキシル保護基、結合され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 $C_1 - C_6$ アルキル、 $C_2 - C_6$ アルケニル、置換 $C_2 - C_6$ アルケニル、 $C_2 - C_6$ アルキニル、または置換 $C_2 - C_6$ アルキニルであり、

R_1 及び R_2 は各々独立して、水素、ハロゲン、置換または非置換アルコキシ、 NJ_1J_2 、 SJ_1 、 N_3 、 $OC(=X)J_1$ 、 $OC(=X)NJ_1J_2$ 、 $NJ_3C(=X)NJ_1J_2$ 、及び CN の中から選択され、式中、 X は、 O 、 S 、または NJ_1 であり、 J_1 、 J_2 、及び J_3 は各々独立して、 H または $C_1 - C_6$ アルキルである。

【0166】

ある特定の実施形態では、修飾 THPヌクレオシドが提供され、式中、 q_1 、 q_2 、 q_3 、 q_4 、 q_5 、 q_6 、及び q_7 が各々 H である。ある特定の実施形態では、 q_1 、 q_2 、 q_3 、 q_4 、 q_5 、 q_6 、及び q_7 のうちの少なくとも1つが H 以外である。ある特定の実施形態では、 q_1 、 q_2 、 q_3 、 q_4 、 q_5 、 q_6 、及び q_7 のうちの少なくとも1つがメチルである。ある特定の実施形態では、修飾 THPヌクレオシドが提供され、式中、 R_1 及び R_2 の一方が F である。ある特定の実施形態では、 R_1 が F であり、 R_2 が H であり、ある特定の実施形態では、 R_1 がメトキシであり、 R_2 が H であり、ある特定の実施形態では、 R_1 がメトキシエトキシであり、 R_2 が H である。

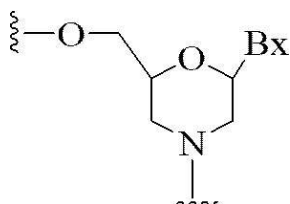
10

【0167】

ある特定の実施形態では、糖代替物は、5つより多くの原子及び1つより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 を参照のこと）。本明細書で使用される場合、「モルホリノ」という用語は、以下の構造を有する糖代替物を意味する。

20

【化10】



30

【0168】

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由来の様々な置換基を付加または改変することによって修飾され得る。かかる糖代替物は、本明細書で「修飾モルホリノ」と称される。

【0169】

ある特定の実施形態では、糖代替物は、非環式部分を含む。かかる非環式糖代替物を含むヌクレオシド及びオリゴヌクレオチドの例には、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 を参照のこと）、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。

40

【0170】

修飾ヌクレオシドに使用され得る多くの他の二環式及び三環式糖ならびに糖代替物環系は、当該技術分野で既知である。

【0171】

2. ある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

50

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。

【0172】

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、2-アミノプロピルアデニン、5-ヒドロキシメチルシトシン、キサンチン、ヒポキサンチン、2-アミノアデニン、6-N-メチルグアニン、6-N-メチルアデニン、2-プロピルアデニン、2-チオウラシル、2-チオチミン及び2-チオシトシン、5-プロピニル ($-C \equiv C-CH_3$) ウラシル、5-プロピニルシトシン、6-アゾウラシル、6-アゾシトシン、6-アゾチミン、5-リボシルウラシル (シュドウラシル)、4-チオウラシル、8-ハロ、8-アミノ、8-チオール、8-チオアルキル、8-ヒドロキシル、8-アザ、及び他の8-置換プリン、5-ハロ、特に、5-ブromo、5-トリフルオロメチル、5-ハロウラシル、及び5-ハロシトシン、7-メチルグアニン、7-メチルアデニン、2-F-アデニン、2-アミノアデニン、7-デアザグアニン、7-デアザアデニン、3-デアザグアニン、3-デアザアデニン、6-N-ベンゾイルアデニン、2-N-イソブチリルグアニン、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、乱交雑塩基、サイズ拡大塩基、ならびにフッ素化塩基から選択される。さらなる修飾核酸塩基には、三環ピリミジン、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-(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) が含まれる。修飾核酸塩基には、プリンまたはピリミジン塩基が他の複素環、例えば、7-デアザアデニン、7-デアザグアニン、2-アミノピリジン、及び2-ピリドンで置き換えられる核酸塩基も含まれ得る。さらなる核酸塩基には、Merigan et al., U. S. 3,687,808に開示されている核酸塩基、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に開示されている核酸塩基、及びChapters 6 and 15, Antisense Drug Technology, Crooke S. T., Ed., CRC Press, 2008, 163-166 and 442-443に開示されている核酸塩基が含まれる。

【0173】

上記の修飾核酸塩基のうちのある特定のもの、ならびに他の修飾核酸塩基の調製を教示する出版物には、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、Bischhofberger 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が含まれるが、これらに限定されない。

10

【0174】

3. ある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一緒に結合され得る。ヌクレオシド間結合基の2つの主要なクラスは、リン原子の存在または不在によって定義される。代表的なリン含有ヌクレオシド間結合には、ホスホジエステル結合（「 $P(O_2)=O$ 」）（非修飾または天然に存在する結合とも称される）を含むホスホジエステル、ホスホトリエステル、メチルホスホネート、メトキシプロピルホスホネート（「MOP」）、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（ $HS-P=S$ ）が含まれるが、これらに限定されない。代表的な非リン含有ヌクレオシド間結合基には、メチレンメチルイミノ（ $-CH_2-N(CH_3)-O-CH_2-$ ）、チオジエステル、チオノカルバメート（ $-O-C(=O)(NH)-S-$ ）、シロキサン（ $-O-SiH_2-O-$ ）、及びN, N'-ジメチルヒドラジン（ $-CH_2-N(CH_3)-N(CH_3)-$ ）が含まれるが、これらに限定されない。天然に存在するリン酸結合と比較して、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、または別個の鏡像異性体として調製され得る。リン含有及び非リン含有ヌクレオシド間結合を調製する方法は、当業者に周知である。

20

30

【0175】

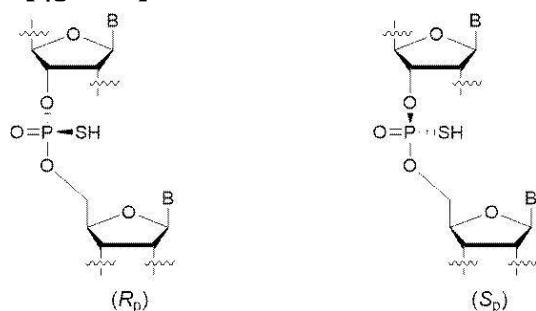
キラル中心を有する代表的なヌクレオシド間結合には、アルキルホスホネート及びホスホロチオエートが含まれるが、これらに限定されない。キラル中心を有するヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドは、ステレオランダムヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドの集団として、または特定の立体化学的配置にあるホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドの集団として調製され得る。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの集団は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合が全てステレオランダムであるホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む。かかる修飾オリゴヌクレオチドは、各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合の立体化学的配置のランダム選択をもたらす合成方法を使用して生成され得る。それにもかかわらず、当業者に十分に理解されるように、個々のホスホロチオエートの各々の個々のオリゴヌクレオチド分子は各々、定義された立体配置を有する。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、独立して選択された特定の立体化学的配置にある1つ以上の特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む修飾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、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、集団中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、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、集団中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、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、集団中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、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、集団中の分子の

40

50

10

20



30

40

50

B. ある特定のモチーフ

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、及び別様に修飾された糖部分、核酸塩基、及び／またはヌクレオシド間結合は、パターンまたはモチーフを定義する。ある特定の実施形態では、糖部分、核酸塩基、及びヌクレオシド間結合のパターンは各々、互いに独立している。それ故に、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場合、核酸塩基モチーフは、核酸塩基の配列から独立した核酸塩基に対する修飾を表す）。

【0179】

10

1. ある特定の糖モチーフ

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、定義されたパターンまたは糖修飾モチーフ内にオリゴヌクレオチドまたはその領域に沿って配置された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。ある特定の事例では、かかる糖モチーフには、本明細書で論じられる糖修飾のうちのいずれかが含まれるが、これらに限定されない。

【0180】

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、2つの外部領域（すなわち、「ウィング」）及び中央または内部領域（すなわち、「ギャップ」）によって定義されるギャップマーモチーフを有する。ギャップマーモチーフの3つの領域（5'-ウィング、ギャップ、及び3'-ウィング）は、隣接するヌクレオシド配列を形成し、ここで、ウィ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うちの少なくともいくつかと異なっている。具体的には、ギャップに最も近い各ウィングのヌクレオシド（5'-ウィングの最も3'側のヌクレオシド及び3'-ウィングの最も5'側のヌクレオシド）の少なくとも糖部分は、隣接するギャップヌクレオシドの糖部分とは異なり、それ故に、ウィングとギャップとの間の境界（すなわち、ウィング／ギャップ接合部）を定義する。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、ギャップは、ギャップの1つ以上の他のヌクレオシドの糖部分とは異なる糖部分を有する1つ以上のヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、2つのウィ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'-ウィングの糖モチーフは、3'-ウィングの糖モチーフとは異なる（非対称ギャップマー）。

20

30

【0181】

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

【0182】

40

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、非修飾2'-デオキシヌクレオシドである。

【0183】

ある特定の実施形態では、ギャップマーは、デオキシギャップマーである。ある特定の実施形態では、各ウィング／ギャップ接合部のギャップ側のヌクレオシドが非修飾2'-デオキシヌクレオシドであり、各ウィング／ギャップ接合部のウィング側のヌクレオシドが修飾ヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、ギャップの各ヌクレオシドは、非修飾2'-デオキシヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、ギャップマーの各ウィングの各ヌクレオシドは、修飾ヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、ギャップ

50

マーのギャップの少なくとも1つのヌクレオシドが修飾糖部分を含み、残りのヌクレオシドが各々2'-デオキシリボシル糖部分を含む。

【0184】

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、完全修飾糖モチーフを有する領域を含むか、またはそれからなる。かかる実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの完全修飾領域の各ヌクレオシドが修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、全修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドが修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、完全修飾糖モチーフを有する領域を含むか、またはそれからなり、完全修飾領域内の各ヌクレオシドは、本明細書で均一修飾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、完全修飾オリゴヌクレオチドは、均一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、均一修飾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。

10

【0185】

本明細書において、ギャップマーの3つの領域の長さ（ヌクレオシドの数）は、表記法「5'-ウィング内のヌクレオシドの数」-「ギャップ内のヌクレオシドの数」-「3'-ウィング内のヌクレオシドの数」を使用して提供され得る。したがって、5-10-5ギャップマーは、各ウィング内の5個の結合されたヌクレオシド及びギャップ内の10個の結合されたヌクレオシドからなる。かかる命名法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、ギャップヌクレオシドは非修飾デオキシヌクレオシド糖を含む。したがって、5-10-5 MOEギャップマーは、5'-ウィング内の5個の結合された2'-MOE修飾ヌクレオシド、ギャップ内の10個の結合されたデオキシヌクレオシド、及び3'-ウィング内の5個の結合された2'-MOEヌクレオシドからなる。

20

【0186】

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

30

【0187】

2. ある特定の核酸塩基モチーフ

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、定義されたパターンまたはモチーフ内にオリゴヌクレオチドまたはその領域に沿って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、核酸塩基のうちのいずれも修飾されていない。ある特定の実施形態では、各プリンまたは各ピリミジンが修飾されている。ある特定の実施形態では、各アデニンが修飾されている。ある特定の実施形態では、各グアニンが修飾されている。ある特定の実施形態では、各チミンが修飾されている。ある特定の実施形態では、各ウラシルが修飾されている。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内のシトシン核酸塩基のうちのいくつかまたは全てが5-メチルシトシンである。ある特定の実施形態では、シトシン核酸塩基の全てが5-メチルシトシンであり、修飾オリゴヌクレオチドの他の核酸塩基の全てが非修飾核酸塩基である。

40

【0188】

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。ある特定のかかる実施形態では、ブロックは、オリゴヌクレオチドの3'末端にある。ある特定の実施形態では、ブロックは、オリゴヌクレオチドの3'末端から3ヌクレオシド以内にある。ある特定の実施形態では、ブロックは、オリゴヌクレオチドの5'末端にある。ある特定の実施形態では、ブロックは、オリゴヌクレオチドの5'末端から3ヌクレ

50

オシド以内にある。

【0189】

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つのヌクレオシドが、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、前述の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、修飾核酸塩基は、2-チオピリミジン及び5-プロピルピリミジンから選択される。

【0190】

3. ある特定のヌクレオシド間結合モチーフ

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、定義されたパターンまたはモチーフ内にオリゴヌクレオチドまたはその領域に沿って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、(*Sp*) ホスホロチオエート、及び(*Rp*) 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、ギャップ内のヌクレオシド間結合は全て修飾されている。ある特定のかかる実施形態では、ウィング内のヌクレオシド間結合のうちのいくつかまたは全てが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、末端ヌクレオシド間結合が修飾されている。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、ヌクレオシド間結合モチーフは、少なくとも1つのウィング内に少なくとも1つのホスホジエステルヌクレオシド間結合を含み、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、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合の全てがステレオランダムである。ある特定の実施形態では、ウィング内のホスホロチオエートヌクレオシド間結合の全てが(*Sp*) ホスホロチオエートであり、ギャップは、少なくとも1つの*Sp*、*Sp*、*Rp*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。

【0191】

C. ある特定の長さ

活性を消失させることなく、オリゴヌクレオチドの長さを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 核酸塩基長の一連のオリゴヌクレオチドが、卵母細胞注射モデルにおける標的核酸の切断を誘導するそれらの能力について試験された。オリゴヌクレオチドの末端付近に8個または11個のミスマッチ塩基を有する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はあるが、標的核酸の特異的切断を指示することができた。同様に、1つまたは3つ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、標的的特異的切断が達成された。

【0192】

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、様々な長さの範囲のうちのいずれかを有することができる。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、 $X \sim Y$ 個の結合されたヌクレオシドからなり、ここで、 X は、その範囲の最小数のヌクレオシドを表し、 Y は、その範囲の最大数のヌクレオシドを表す。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、但し、XがY以下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、12～14、12～15、12～16、12～17、12～18、12～19、12～20、12～21、12～22、12～23、12～24、12～25、12～26、12～27、12～28、12～29、12～30、13～14、13～15、13～16、13～17、13～18、13～19、13～20、13～21、13～22、13～23、13～24、13～25、13～26、13～27、13～28、13～29、13～30、14～15、14～16、14～17、14～18、14～19、14～20、14～21、14～22、14～23、14～24、14～25、14～26、14～27、14～28、14～29、14～30、15～16、15～17、15～18、15～19、15～20、15～21、15～22、15～23、15～24、15～25、15～26、15～27、15～28、15～29、15～30、16～17、16～18、16～19、16～20、16～21、16～22、16～23、16～24、16～25、16～26、16～27、16～28、16～29、16～30、17～18、17～19、17～20、17～21、17～22、17～23、17～24、17～25、17～26、17～27、17～28、17～29、17～30、18～19、18～20、18～21、18～22、18～23、18～24、18～25、18～26、18～27、18～28、18～29、18～30、19～20、19～21、19～22、19～23、19～24、19～25、19～26、19～27、19～28、19～29、19～30、20～21、20～22、20～23、20～24、20～25、20～26、20～27、20～28、20～29、20～30、21～22、21～23、21～24、21～25、21～26、21～27、21～28、21～29、21～30、22～23、22～24、22～25、22～26、22～27、22～28、22～29、22～30、23～24、23～25、23～26、23～27、23～28、23～29、23～30、24～25、24～26、24～27、24～28、24～29、24～30、25～26、25～27、25～28、25～29、25～30、26～27、26～28、26～29、26～30、27～28、27～29、27～30、28～29、28～30、または29～30個の結合されたヌクレオシドからなる。

10

20

30

【0193】

D. ある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）が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。したがって、別途指示されない限り、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、修飾されていてもまたは非修飾であってもよく、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ィング領域内のヌクレオシド間結合は、互いに同じであっても異なってもよく、糖モチーフのギャップ領域のヌクレオシド間結合と同じであっても異なってもよい。同様に、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から独立した1つ以上の修飾核酸塩基を含み得る。別途指示されない限り、全ての修飾が核酸塩基配列から独立している。

40

【0194】

E. 修飾オリゴヌクレオチドのある特定の集団

集団の全ての修飾オリゴヌクレオチドが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またはキラル濃縮集団であり得る。全ての修飾オリゴヌクレオチドの全てのキラル中心は、ステレオランダム集団内でステレオランダムである。キラ

50

ル濃縮集団では、少なくとも1つの特定のキラル中心は、集団の修飾オリゴヌクレオチドにおいてステレオランダムではない。ある特定の実施形態では、キラル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は全て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、特定の立体化学的配置にある β -Dリボシル糖部分及び少なくとも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。

【0195】

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2のオリゴヌクレオチドまたは標的核酸などの特定された参照核酸に対して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一部が、第2のオリゴヌクレオチドまたは標的核酸などの特定された参照核酸に対して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一部または全長の核酸塩基配列は、第2のオリゴヌクレオチドまたは標的核酸などの核酸に対して少なくとも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。

【0196】

II. ある特定のオリゴマー化合物

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチド（修飾または非修飾）と、任意に1つ以上のコンジュゲート基及び／または末端基とからなるオリゴマー化合物が本明細書で提供される。コンジュゲート基は、1つ以上のコンジュゲート部分と、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とからなる。コンジュゲート基は、オリゴヌクレオチドの一方もしくは両方の末端及び／または任意の内部位置に結合していてもよい。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'位に結合している。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドの一方または両方の末端に結合している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'末端に結合している。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'末端に結合している。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'末端付近に結合している。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'末端に結合している。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'末端付近に結合している。

【0197】

末端基の例には、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、修飾されたまたは修飾されていないヌクレオシド、及び独立して修飾されたまたは修飾されていない2つ以上のヌクレオシドが挙げられるが、これらに限定されない。

【0198】

A. ある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、薬力学、薬物動態、安定性、結合性、吸収性、組織分布、細胞分布、細胞取り込み、電荷、及びクリアランスを含むが、これらに限定されない、結合したオリゴヌクレオチドの1つ以上の特性を修飾する。ある特定の実施形態では、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、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、例えば、コレステロール部分 (L e t s i n g e r e t a l . , P r o c . N a t l . A c a d . S c i

. USA, 1989, 86, 6553-6556)、コール酸 (Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4, 1053-1060)、チオエーテル、例えば、ヘキシル-S-トリチルチオール (Manoharan et al., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1992, 660, 306-309、Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1993, 3, 2765-2770)、チオコレステロール (Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20, 533-538)、脂肪族鎖、例えば、ドデカン-ジオールまたはウンデシル残基 (Saison-Behmoaras et al., EMBO J., 1991, 10, 1111-1118、Kabanov et al., FEBS Lett., 1990, 259, 327-330、Svinarchuk et al., Biochimie, 1993, 75, 49-54)、リン脂質、例えば、ジ-ヘキサデシル-rac-グリセロールまたはトリエチル-アンモニウム1, 2-ジ-O-ヘキサデシル-rac-グリセロ-3-H-ホスホネート (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654、Shea et al., Nucl. Acids Res., 1990, 18, 3777-3783)、ポリアミン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α-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サミノ-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) について以前に記載されている。

10

20

30

40

50

【0199】

1. コンジュゲート部分

コンジュゲート部分には、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、葉酸塩、脂質、脂溶性基、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、及び色素が含まれるが、これらに限定されない。

【0200】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート部分は、活性薬原薬、例えば、アスピリン、ワルファリン、フェニルブタゾン、イブプロフェン、スプロフェン、フェンブフェン、ケトプロフェン、(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、ベンゾチアジアジド、クロロチアジアジド、ジアゼピン、インドメタシン、バルビツレート、セファロsporin、サルファ薬、抗糖尿病薬、抗菌薬、または抗生物質を含む。

【0201】

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、コンジュゲート部分は、コンジュゲートリンカーを構成するサブユニットである1つ以上のコンジュゲートリンカー部分を含むより複雑な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。ある特定の实

施形態では、コンジュゲートリンカーは、ヒドロカルビル鎖などの鎖構造、またはエチレングリコール、ヌクレオシド、もしくはアミノ酸単位などの繰り返し単位のオリゴマーを含む。

【0202】

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。ある特定のかかる実施形態では、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、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、コンジュゲートリンカーは、アルキル及びアミド基から選択される基を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、アルキル及びエーテル基から選択される基を含む。ある特定の実施形態では、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、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、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。

10

【0203】

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、二官能性結合部分、例えば、本明細書に提供されるオリゴヌクレオチドなどのコンジュゲート基を親化合物に結合する際に有用であることが当該技術分野で知られているものである。一般に、二官能性結合部分は、少なくとも2つの官能基を含む。官能性基の一方は、親化合物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。二官能性結合部分に使用される官能基の例には、求核基と反応させるための求電子基及び求電子基と反応させるための求核基が挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、二官能性結合部分は、アミノ、ヒドロキシル、カルボン酸、チオール、アルキル、アルケニル、及びアルキニルから選択される1つ以上の基を含む。

20

【0204】

コンジュゲートリンカーの例には、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には、置換もしくは非置換C₁-C₁₀アルキル、置換もしくは非置換C₂-C₁₀アルケニル、または置換もしくは非置換C₂-C₁₀アルキニルが含まれるが、これらに限定されず、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。

30

【0205】

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、正確に3個のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、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た複素環式塩基を含む。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、ウラシル、チミン、シトシン、4-N-ベンゾイルシトシン、5-メチルシトシン、4-N-ベンゾイル-5-メチルシトシン、アデニン、6-N-ベンゾイルアデニン、グアニン、及び2-N-イソブチリルグアニンから選択されるヌクレオシドである。典型的には、リンカーヌクレオシドが標的組織に到達した後に、それがオリゴマー化合物から切断されることが望ましい。したがって、リンカーヌクレオシドは、

40

50

典型的には、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りの部分に結合される。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。

【0206】

本明細書では、リンカーヌクレオシドは、オリゴヌクレオチドの一部とはみなされない。したがって、オリゴマー化合物が特定の数または範囲の結合されたヌクレオシド及び／または参照核酸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、オリゴヌクレオチドの長さに考慮されず、参照核酸に対するオリゴヌクレオチドの相補性パーセントを決定する際に使用されない。例えば、オリゴマー化合物は、(1) 8～30個のヌクレオシドからなる修飾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隣接する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隣接する結合されたヌクレオシドの総数は、30個を超える。あるいは、オリゴマー化合物は、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を含み、コンジュゲート基を含まない場合がある。かかるオリゴマー化合物中の隣接する結合されたヌクレオシドの総数は、30個以下である。別途指示されない限り、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、1個以下のリンカーヌクレオシドを含む。

10

20

【0207】

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、ある特定の状況では、特定のコンジュゲート部分を含むオリゴマー化合物は、特定の細胞型によってより良好に取り込まれるが、オリゴマー化合物が取り込まれると、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を放出することが望ましい。したがって、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つを超える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、リソソームなど細胞または細胞内コンパートメント内部で選択的に切断される。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、ヌクレアーゼなどの内因性酵素によって選択的に切断される。

30

【0208】

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、またはジスルフィドの中から選択される。ある特定の実施形態では、切断可能な結合は、ホスホジエステルの一方または両方のエステルである。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、リン酸エステルまたはホスホジエステルを含む。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、オリゴヌクレオチド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結合である。

40

【0209】

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、1つ以上のリンカーヌクレオシドは、切断可能な結合を介して互いに、及び／またはオリゴマー化合物の残りの部分に結合される。ある特定の実施形態では、かかる切断可能な結合は、非修飾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、リン酸ヌクレオシド間結合に

50

よってオリゴヌクレオチドの3'末端ヌクレオシドまたは5'末端ヌクレオシドのいずれかに結合しており、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に共有結合している2'-デオキシヌクレオシドである。ある特定のかかる実施形態では、切断可能な部分は、2'-デオキシアデノシンである。

【0210】

B. ある特定の末端基

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、1つ以上の末端基を含む。ある特定のかかる実施形態では、オリゴマー化合物は、安定化された5'-ホスフェートを含む。安定化された5'-ホスフェートには、5'-ビニルホスホネートを含むが、これに限定されない 10
い5'-ホスファネートが含まれるが、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／または逆位ヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、末端基は、1つ以上の2'結合ヌクレオシドを含む。ある特定のかかる実施形態では、2'結合ヌクレオシドは、脱塩基ヌクレオシドである。

【0211】

III. オリゴマー二本鎖

ある特定の実施形態では、本明細書に記載のオリゴマー化合物は、標的核酸の核酸塩基配列に対して相補的な核酸塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを含む。ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、第2のオリゴマー化合物と対合されて、オリゴマー二本鎖を形成する。かかるオリゴマー二本鎖は、標的核酸に対して相補的な領域を有する第1のオリゴマー化合物と、第1のオリゴマー化合物に対して相補的な領域を有する第2のオリゴマー化合物とを含む。ある特定の実施形態では、オリゴマー二本鎖の第1のオリゴマー化合物は、(1)修飾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と、 20
(2)第2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とを含むか、またはこれらからなる。オリゴマー二本鎖の一方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。オリゴマー二本鎖の各オリゴマー化合物のオリゴヌクレオチドは、非相補的な突出ヌクレオシドを含み得る。

【0212】

IV. アンチセンス活性

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物及びオリゴマー二本鎖は、標的核酸にハイブリダイズして少なくとも1つのアンチセンス活性をもたらすことができ、かかるオリゴマー化合物及びオリゴマー二本鎖はアンチセンス化合物である。ある特定の実施形態では、アンチセンス化合物は、それらが標準のインビボアッセイにおいて標的核酸の量または活性を25%以上減少させる、阻害する、調節する、または増加させる場合、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影響を及ぼす。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もたらす、かつ1つ以上の非標的核酸にハイブリダイズしないか、または有意な望ましくないアンチセンス活性をもたらすような方法で1つ以上の非標的核酸にハイブリダイズしない核酸塩基配列を含む。 30

【0213】

ある特定のアンチセンス活性では、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により、標的核酸を切断するタンパク質の動員がもたらされる。例えば、ある特定のアンチセンス化合物は、標的核酸のRNase H媒介性切断をもたらす。RNase Hは、RNA:DNA二本鎖のRNA鎖を切断する細胞性エンドヌクレアーゼである。かかるRNA:DNA二本鎖の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活性を誘発するのに十分に「DNA様」のアンチセンス化合物が本明細書に記載される。ある特定の実施形態では、ギャップマーのギャップ内の1つ以上の非DNA様ヌクレオシドが許容される。 40

【0214】

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一部 50

分がRNA誘導性サイレンシング複合体(RISC)にロードされ、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にロードされるアンチセンス化合物は、RNAi化合物である。RNAi化合物は、二本鎖(siRNA)または一本鎖(ssRNA)であり得る。

【0215】

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により、標的核酸を切断するタンパク質の動員はもたらされない。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により、標的核酸のスプライシングの改変がもたらされる。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により、標的核酸とタンパク質または他の核酸との間の結合相互作用の阻害がもたらされる。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により、標的核酸の翻訳の改変がもたらされる。

10

【0216】

アンチセンス活性は、直接または間接的に観察され得る。ある特定の実施形態では、アンチセンス活性の観察または検出は、かかる標的核酸によってコードされる標的核酸もしくは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動物における表現型変化の観察または検出を含む。

【0217】

V. ある特定の標的核酸

20

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、標的核酸に対して相補的な領域を含むオリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなる。ある特定の実施形態では、標的核酸は、内在性RNA分子である。ある特定の実施形態では、標的核酸は、タンパク質をコードする。ある特定のかかる実施形態では、標的核酸は、成熟mRNA及びプレmRNA(イントロン領域、エクソン領域、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、標的RNAは、成熟mRNAである。ある特定の実施形態では、標的核酸は、プレmRNAである。ある特定のかかる実施形態では、標的領域は、全体がイントロン内にある。ある特定の実施形態では、標的領域は、イントロン／エクソン接合部にわたる。ある特定の実施形態では、標的領域は、イントロン内の少なくとも50%にある。ある特定の実施形態では、標的核酸は、レトロ遺伝子のRNA転写物である。ある特定の実施形態では、標的核酸は、非コードRNAである。ある特定のかかる実施形態では、標的非コードRNAは、長鎖非コードRNA、短鎖非コードRNA、イントロンRNA分子から選択される。

30

【0218】

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ら(J. Natl. Cancer Inst. 93:463-471, March 2001)は、bcl-2 mRNAに対して100%の相補性を有し、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及びbcl-xLの両方の発現を減少させる能力を実証した。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実証した。Maher及びDolnick(Nuc. Acids. Res. 16:3341-3358, 1988)は、一連の14核酸塩基のタンデムオリゴヌクレオチド、ならびにそれぞれ、そのタンデムオリゴヌクレオチドのうちの2つまたは3つの配列で構成される28及び42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それらの能力について試験した。これらの3つの14核酸塩基のオリゴヌクレオチドは各々単独で、28または42核酸塩基のオリゴヌクレオチドよりもわずかなレベルではあるが、翻訳を阻害することができた。

40

【0219】

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドの全長にわたって

50

標的核酸に対して相補的である。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、標的核酸に対して99%、95%、90%、85%、または80%相補的である。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドの全長にわたって標的核酸に対して少なくとも80%相補的であり、標的核酸に対して100%または完全に相補的な領域を含む。ある特定の実施形態では、完全に相補的な領域は、6~20、10~18、または18~20核酸塩基長である。ある特定の実施形態では、完全に相補的な領域は、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20の核酸塩基長である。

【0220】

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減少するが、非標的に対する活性はより大きく減少する。したがって、ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドの選択性が改善される。ある特定の実施形態では、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位置付けられる。ある特定の実施形態では、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、または8位にある。ある特定の実施形態では、ミスマッチは、ギャップ領域の3'末端から9、8、7、6、5、4、3、2、1位にある。ある特定の実施形態では、ミスマッチは、ウィング領域の5'末端から1、2、3、または4位にある。ある特定の実施形態では、ミスマッチは、ウィング領域の3'末端から4、3、2、または1位にある。

【0221】

B. A T X N 3

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、標的核酸に対して相補的な領域を含むオリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなり、その標的核酸はA T X N 3である。ある特定の実施形態では、A T X N 3核酸は、配列番号1 (G E N B A N K 受託番号N M _ 0 0 4 9 9 3 . 5)、配列番号2 (ヌクレオチド9 2 , 0 5 6 , 0 0 1 ~ 9 2 , 1 1 0 , 0 0 0 から切断されたG E N B A N K 受託番号N C _ 0 0 0 0 1 4 . 9 の相補体)、または配列番号3 (ヌクレオチド9 2 0 3 8 0 0 1 ~ 9 2 1 1 0 0 0 0 から切断されたG E N B A N K 受託番号N C _ 0 0 0 0 1 4 . 9 の相補体) に記載の配列を有する。

【0222】

ある特定の実施形態では、細胞を配列番号1~3のうちのいずれかに対して相補的なオリゴマー化合物と接触させることにより、A T X N 3 RNAの量が減少し、ある特定の実施形態では、アタキシン-3タンパク質の量が減少する。ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、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、動物における細胞を配列番号1~3のうちのいずれかに対して相補的なオリゴマー化合物と接触させることにより、神経変性疾患の1つ以上の症状または特徴が改善される。ある特定の実施形態では、症状または特徴は、運動失調、神経障害、及び凝集体形成である。ある特定の実施形態では、動物における細胞を配列番号1~3のうちのいずれかに対して相補的なオリゴヌクレオチドと接触させることにより、運動機能の改善、神経障害の軽減、及び凝集体の数の減少がもたらされる。ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、修飾オリゴヌクレオチドからなる。

【0223】

C. ある特定の組織中のある特定の標的核酸

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、標的核酸に対して相補的な領域を含むオリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなり、標的核酸は薬理学的に関連した組織内で発現される。ある特定の実施形態では、薬理学的に関連した組織は、脊髄、皮質、小脳、及び脳幹を含む中枢神経系 (C N S) を含む細胞及び組織である。

【0224】

V I. ある特定の薬学的組成物

ある特定の実施形態では、1つ以上のオリゴマー化合物を含む薬学的組成物が本明細書に

10

20

30

40

50

記載される。ある特定の実施形態では、1つ以上のオリゴマー化合物は各々、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、薬学的組成物は、薬学的に許容される希釈剤または担体を含む。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、滅菌生理食塩水及び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、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、薬学的組成物は、1つ以上のオリゴマー化合物及び滅菌水を含むか、またはそれらからなる。ある特定の実施形態では、滅菌水は、医薬品グレードの水である。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、1つ以上のオリゴマー化合物及びリン酸緩衝生理食塩水（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、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、薬学的組成物は、1つ以上のオリゴマー化合物及び人工脳脊髄液を含むか、またはそれらからなる。ある特定の実施形態では、人工脳脊髄液は、医薬品グレードである。

10

【0225】

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

【0226】

ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、1つ以上のオリゴマー化合物及び1つ以上の賦形剤を含む。ある特定の実施形態では、賦形剤は、水、食塩水、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、滑石、ケイ酸、粘性パラフィン、ヒドロキシメチルセルロース、及びポリビニルピロリドンから選択される。

20

【0227】

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、薬学的組成物または製剤の調製のために薬学的に許容される活性及び／または不活性物質と混合され得る。薬学的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を含むが、これらに限定されないいくつかの基準に依存する。

【0228】

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物を含む薬学的組成物は、オリゴマー化合物の任意の薬学的に許容される塩、オリゴマー化合物のエステル、または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薬学的組成物は、ヒトを含む動物への投与時に、生物学的に活性な代謝物またはその残留物を（直接または間接的に）提供することができる。したがって、例えば、本開示は、オリゴマー化合物の薬学的に許容される塩、プロドラッグ、かかるプロドラッグの薬学的に許容される塩、及び他の生物学的等価物も対象とする。好適な薬学的に許容される塩には、ナトリウム塩及びカリウム塩が含まれるが、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た1つ以上のコンジュゲート基を含み、このコンジュゲート基は、体内の内因性ヌクレアーゼによって切断される。

30

40

【0229】

脂質部分は、核酸療法において様々な方法で使用されている。ある特定のかかる方法では、オリゴマー化合物などの核酸は、カチオン性脂質と中性脂質との混合物から作製され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。ある特定の方法では、モノまたはポリカチオン性脂質とのDNA複合体は、中性脂質の不在下で形成される。ある特定の実施形態では、脂質部分は、医薬品の特定の細胞または組織へ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、医薬品の脂肪組織へ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、医薬品の筋肉組織への分布を増加させるように選択される。

50

【0230】

ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、送達系を含む。送達系の例には、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薬学的組成物を含む特定の薬学的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などのある特定の有機溶媒が使用される。

【0231】

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

10

【0232】

ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、共溶媒系を含む。ある特定のかかる共溶媒系は、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、3w/v%のベンジルアルコール、8w/v%の非極性界面活性剤Polysorbate 80（商標）、及び65w/v%のポリエチレングリコール300を含む無水エタノール溶液である。かかる共溶媒系の割合は、それらの溶解特性及び毒性特性を有意に変化させることなく大幅に変動し得る。さらに、共溶媒成分の同一性は変動し得、例えば、他の界面活性剤がPolysorbate 80（商標）の代わりに使用されてもよく、ポリエチレングリコールの画

20

【0233】

ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、経口投与用に調製される。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、口腔投与用に調製される。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、注射による投与（例えば、静脈内、皮下、筋肉内、髄腔内（IT）、脳室内（ICV）など）用に調製される。ある特定のかかる実施形態では、薬学的組成物は、担体を含み、水溶液、例えば、水または生理学的に相溶性の緩衝液、例えば、ハンクス溶液、リンガー溶液、または生理食塩水緩衝液中で製剤化される。ある特定の実施形態では、他の成分（例えば、溶解を助けるか、または防腐剤としての機能を果たす成分）が含まれる。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、懸濁化剤などを使用して調製される。注射用のある特定の薬学的組成物は、単位剤形で、例えば、アンプルで提供されるか、または多用量容器内に提供される。注射用のある特定の薬学的組成物は、油性または水性ビヒクル中の懸濁液、溶液、またはエマルジョンであり、懸濁化剤、安定化剤、及び／または分散剤などの製剤化剤を含有し得る。注射用の薬学的組成物における使用に好適なある特定の溶媒には、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、及びリポソームが含まれるが、これらに限定されない。

30

【0234】

ある特定の条件下で、本明細書に開示されるある特定の化合物は、酸として作用する。かかる化合物が、プロトン化された（遊離酸）形態で、またはイオン化され、かつカチオンと会合した（塩）形態で描かれるか、または記載される場合があるが、かかる化合物の水溶液は、かかる形態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、遊離酸形態、アニオン形態、及び塩形態の間で平衡状態で存在する。別途指示されない限り、本明細書に記載の化合物は、全てのかかる形態を含むよう意図されている。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、それらは各々平衡状態にある。したがって、溶液中のオリゴヌクレオチドは、全て平衡状態にある複数の位置で形態の集合体に存在する。「オリゴヌクレオチド」という用語は、全てのかかる形態を含むよう意図されている。描かれている構造は、単一の形態を必然的に描写

40

50

している。それにもかかわらず、別途指示されない限り、かかる図面も同様に、対応する形態を含むよう意図されている。本明細書において、化合物の後に「またはその塩」という用語が続く遊離酸を描写する構造は、完全にまたは部分的にプロトン化されている／脱プロトン化されている／カチオンと会合している場合がある全てのかかる形態を明示的に含む。ある特定の事例では、1つ以上の特定のカチオンが特定される。

【0235】

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、ナトリウムを含む水溶液中に存在する。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、カリウムを含む水溶液中に存在する。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中に存在する。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、水中に存在する。ある特定の事例では、溶液のpHは、所望のpHが得られるようにNaOH及び／またはHClで調整される。

10

【0236】

本明細書において、ある特定の具体的な用量が記載される。用量は、投薬量単位の形態であり得る。明確にするために、ミリグラム単位の修飾オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物の用量（または投薬量単位）は、修飾オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物の遊離酸形態の質量を示す。上記のように、水溶液中では、遊離酸は、アニオン形態及び塩形態と平衡状態にある。しかしながら、用量を計算する目的のために、修飾オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物が、溶媒を含まず、酢酸ナトリウムを含まない無水の遊離酸として存在していると想定される。例えば、修飾オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物がナトリウムを含む溶液（例えば、生理食塩水）中に存在する場合、修飾オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物は、部分的にまたは完全に脱プロトン化されており、Na⁺イオンと会合している場合がある。しかしながら、プロトンの質量は、それでもなお用量の重量に考慮され、Na⁺イオンの質量は、用量の重量に考慮されない。したがって、例えば、10mgの化合物番号1269455、化合物番号1287621、及び化合物番号1287095の用量または投薬量単位は、10mgの重量の完全にプロトン化された分子の数に等しい。これは、10.59mgの溶媒を含まず、酢酸ナトリウムを含まない無水のナトリウムイオン付加(sodiated)化合物番号1269455、10.59mgの溶媒を含まず、酢酸ナトリウムを含まない無水のナトリウムイオン付加化合物番号1287621、及び10.59mgの溶媒を含まず、酢酸ナトリウムを含まない無水のナトリウムイオン付加化合物番号1287095と同等である。オリゴマー化合物がコンジュゲート基を含む場合、コンジュゲート基の質量は、かかるオリゴマー化合物の用量の計算に含まれる。コンジュゲート基も酸を有する場合、コンジュゲート基も同様に、用量を計算する目的のために完全にプロトン化されていると想定される。

20

30

【0237】

VII. ある特定の組成物

1. 化合物番号1269455

ある特定の実施形態では、化合物番号1269455は、(5'から3'に)AGCCAA TATTTATAGGTGCT(配列番号117)の配列を有する5'-10'-5' MOEギャップマーとして特徴付けられ、ヌクレオシド1~5及び16~19(5'から3'に)が各々、2'-MOE糖部分を含み、ヌクレオシド6~15が各々、2'-β-D-デオキシヌクレオシドであり、ヌクレオシド2と3、3と4、4と5、16と17、及び17と18との間のヌクレオシド間結合がホスホジエステルヌクレオシド間結合であり、ヌクレオシド1と2、5と6、6と7、7と8、8と9、9と10、10と11、11と12、12と13、13と14、14と15、15と16、18と19、及び19と20との間の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り、各シトシンが5-メチルシトシンである。

40

【0238】

ある特定の実施形態では、化合物番号1269455は、以下の化学表記法：AesGe

50

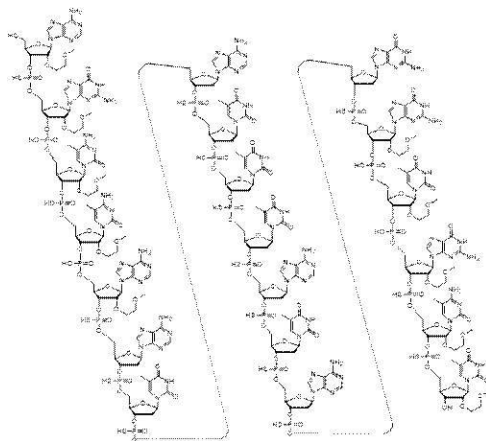
o m C e o m C e o A e s A d s T d s A d s T d s T d s T d s A d s T d s A d s G
 d s G e o T e o G e s m C e s T e (配列番号 117) によって表され、式中、
 A がアデニン核酸塩基であり、
 m C が 5-メチルシトシン核酸塩基であり、
 G がグアニン核酸塩基であり、
 T がチミン核酸塩基であり、
 e が 2'-MOE 糖部分であり、
 d が 2'-β-D-デオキシリボシル糖部分であり、
 s がホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり、
 o がホスホジエステルヌクレオシド間結合である。

10

【0239】

ある特定の実施形態では、化合物番号 1269455 は、以下の化学構造によって表される。

【化12】



20

(配列番号 117)

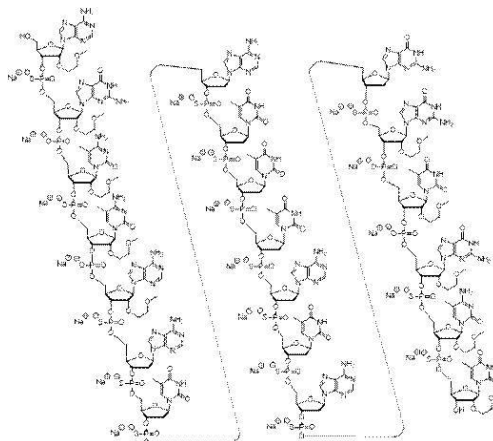
【0240】

構造 1. 化合物番号 1269455

ある特定の実施形態では、化合物番号 1269455 のナトリウム塩は、以下の化学構造によって表される。

30

【化13】



40

(配列番号 117)

【0241】

構造 2. 化合物番号 1269455 のナトリウム塩

2. 化合物番号 1287621

ある特定の実施形態では、化合物番号 1287621 は、(5' から 3' に) G C C A T T
 A A T C T A T A C T G A A T (配列番号 137) の配列を有する 6-10-4 MOE

50

ギャップマーとして特徴付けられ、ヌクレオシド 1～6 及び 17～20 (5' から 3' に) が各々、2'-MOE 糖部分を含み、ヌクレオシド 7～16 が各々、2'-β-D-デオキシヌクレオシドであり、ヌクレオシド 2 と 3、3 と 4、4 と 5、5 と 6、6 と 7、及び 17 と 18 との間のヌクレオシド間結合がホスホジエステルヌクレオシド間結合であり、ヌクレオシド 1 と 2、7 と 8、8 と 9、9 と 10、10 と 11、11 と 12、12 と 13、13 と 14、14 と 15、15 と 16、16 と 17、18 と 19、及び 19 と 20 との間の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り、各シトシンが 5-メチルシトシンである。

【0242】

ある特定の実施形態では、化合物番号 1287621 は、以下の化学表記法：G e s m C e o m C e o A e o T e o T e o A d s A d s T d s m C d s T d s A d s T d s A d s m C d s T d s G e o A e s A e s T e (配列番号 137) によって表され、式中、

A がアデニン核酸塩基であり、

mC が 5-メチルシトシン核酸塩基であり、

G がグアニン核酸塩基であり、

T がチミン核酸塩基であり、

e が 2'-MOE 糖部分であり、

d が 2'-β-D-デオキシリボシル糖部分であり、

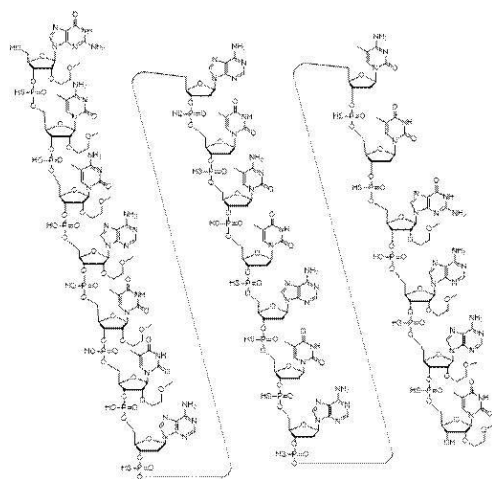
s がホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり、

o がホスホジエステルヌクレオシド間結合である。

【0243】

ある特定の実施形態では、化合物番号 1287621 は、以下の化学構造によって表される。

【化 14】



(配列番号 137)

【0244】

構造 3. 化合物番号 1287621

ある特定の実施形態では、化合物番号 1287621 のナトリウム塩は、以下の化学構造によって表される。

10

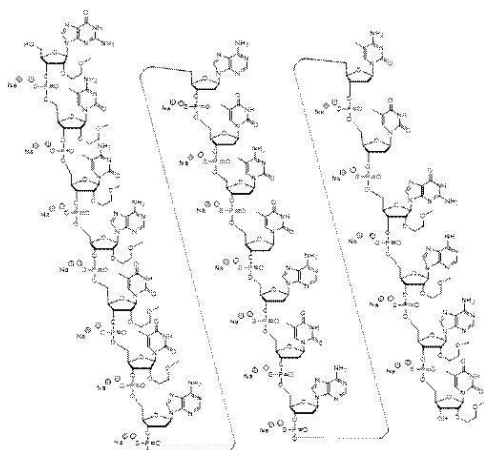
20

30

40

50

【化 15】



10

(配列番号 137)

【0245】

構造 4. 化合物番号 1287621 のナトリウム塩

3. 化合物番号 1287095

ある特定の実施形態では、化合物番号 1287095 は、(5' から 3' に) G C A T A T T G G T T T T C T C A T T T (配列番号 50) の配列を有する 6-10-4 MOE ギャップマーとして特徴付けられ、ヌクレオシド 1~6 及び 17~20 (5' から 3' に) が各々、2'-MOE 糖部分を含み、ヌクレオシド 7~16 が各々、2'-β-D-デオキシヌクレオシドであり、ヌクレオシド 2 と 3、3 と 4、4 と 5、5 と 6、6 と 7、及び 17 と 18 との間のヌクレオシド間結合がホスホジエステルヌクレオシド間結合であり、ヌクレオシド 1 と 2、7 と 8、8 と 9、9 と 10、10 と 11、11 と 12、12 と 13、13 と 14、14 と 15、15 と 16、16 と 17、18 と 19、及び 19 と 20 との間の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り、各シトシンが 5-メチルシトシンである。

20

【0246】

ある特定の実施形態では、化合物番号 1287095 は、以下の化学表記法：G e s m C e o A e o T e o A e o T e o T d s G d s G d s T d s T d s T d s T d s m C d s T d s m C d s A e o T e s T e s T e (配列番号 50) によって表され、式中、A がアデニン核酸塩基であり、mC が 5-メチルシトシン核酸塩基であり、G がグアニン核酸塩基であり、T がチミン核酸塩基であり、e が 2'-MOE 糖部分であり、d が 2'-β-D-デオキシリボシル糖部分であり、s がホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり、o がホスホジエステルヌクレオシド間結合である。

30

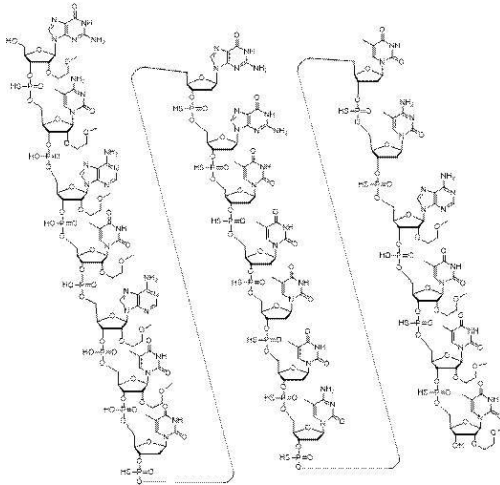
40

【0247】

ある特定の実施形態では、化合物番号 1287095 は、以下の化学構造によって表される。

50

【化 1 6】



10

(配列番号 5 0)

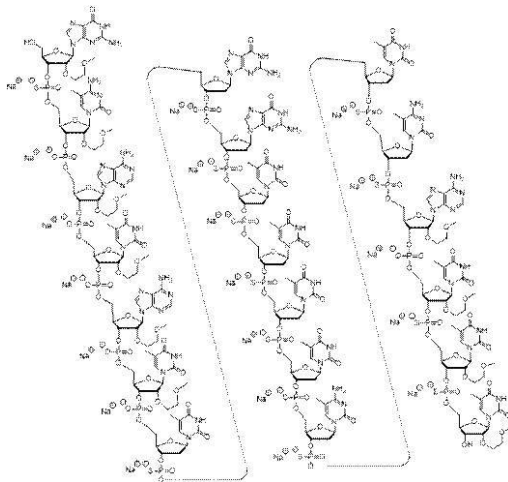
【0 2 4 8】

構造 5. 化合物番号 1 2 8 7 0 9 5

ある特定の実施形態では、化合物番号 1 2 8 7 0 9 5 のナトリウム塩は、以下の化学構造によって表される。

20

【化 1 7】



30

(配列番号 5 0)

【0 2 4 9】

構造 6. 化合物番号 1 2 8 7 0 9 5 のナトリウム塩

V I I I. ある特定の比較組成物

ある特定の実施形態では、Moore, et al., Mol. Ther. Nucleic Acids, 2017, 7: 200-210 (Moore, 2017) (「ASO-5」)、WO2018/089805、及び McLoughlin et al., Ann. Neurol., 2018, 84: 64-77 (McLoughlin, 2018) (これらは各々参照により本明細書に組み込まれる)に記載されている化合物番号 6 5 0 5 2 8 が比較化合物として使用された。化合物番号 6 5 0 5 2 8 は、(5' から 3' に) G C A T C T T T T C A T A C T G G C (配列番号 1 0) の配列を有する 5-8-5 MOE ギャップマーであり、各シトシンが 5-メチルシトシンであり、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り、ヌクレオシド間結合モチーフが s o o o s s s s s s s s s s s o o s s s であり、ここで、「s」がホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表し、「o」がホスホジエステルヌクレオシド間結合を表し、ヌクレオシド 1~5 及び 14~18 が各々、2'

40

50

－MOE糖部分を含む。

【0250】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の化合物は、それらが効力及び有効性などの1つ以上の特性の改善を示すため、Moore, 2017、WO2018/089805、及びMcLoughlin, 2018に記載の比較化合物番号650528よりも優れている。

【0251】

例えば、本明細書に記載されるように、ある特定の化合物、化合物番号1269455、化合物番号1287095、及び化合物番号1287621は、インビトロで比較化合物番号650528よりも強力である。例えば、本明細書の以下の実施例5を参照されたい。例えば、本明細書に記載されるように、ある特定の化合物、化合物番号1269455、化合物番号1287095、及び化合物番号1287621が、本明細書の以下の実施例5で、それぞれ、0.09 μ M、0.02 μ M、及び0.8 μ MのIC₅₀を達成した一方で、比較化合物番号650528（「ASO-5」）は、以下の実施例5で、2.03 μ MのIC₅₀を達成した。したがって、本明細書に記載のある特定の化合物は、このアッセイにおいて、比較化合物番号650528（「ASO-5」）よりも強力である。

10

【0252】

例えば、本明細書に記載されるように、ある特定の化合物、化合物番号1269455、化合物番号1287095、及び化合物番号1287621は、インビボで比較化合物番号650528よりも有効である。例えば、本明細書の以下の実施例3を参照されたい。例えば、表10に提供されるように、化合物番号1269455が、トランスジェニックマウスの脊髄で18%、皮質で20%、及び脳幹で14%の平均発現レベル（対照%）を達成した一方で、比較化合物番号650528（「ASO-5」）は、トランスジェニックマウスの脊髄で38%、皮質で39%、及び脳幹で31%の平均発現レベル（対照%）を達成した。例えば、表11に提供されるように、ある特定の化合物、化合物番号1287095及び化合物番号1287621が、それぞれ、トランスジェニックマウスの脊髄で24%及び33%の平均発現レベル（対照%）を達成した一方で、比較化合物番号650528（「ASO-5」）は、トランスジェニックマウスの脊髄で49%の平均発現レベル（対照%）を達成した。例えば、表11に提供されるように、ある特定の化合物、化合物番号1287095及び化合物番号1287621が、それぞれ、トランスジェニックマウスの皮質で17%及び27%の平均発現レベル（対照%）を達成した一方で、比較化合物番号650528（「ASO-5」）は、トランスジェニックマウスの皮質で49%の平均発現レベル（対照%）を達成した。例えば、表11に提供されるように、ある特定の化合物、化合物番号1287095及び化合物番号1287621が、それぞれ、トランスジェニックマウスの脳幹で15%及び29%の平均発現レベル（対照%）を達成した一方で、比較化合物番号650528（「ASO-5」）は、トランスジェニックマウスの脳幹で45%の平均発現レベル（対照%）を達成した。したがって、本明細書に記載のある特定の化合物は、このアッセイにおいて、比較化合物番号650528（「ASO-5」）よりも有効である。

20

30

【0253】

IX. ある特定のホットスポット領域

1. 配列番号2の核酸塩基6, 597~6, 619

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基6, 597~6, 619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2の核酸塩基6, 597~6, 619に対して相補的である。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。

【0254】

ある特定の実施形態では、ギャップマーは、5-10-5 MOEギャップマーである。

ある特定の実施形態では、ギャップマーは、6-10-4 MOEギャップマーである。

50

【 0 2 5 5 】

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間結合は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合（「o」）及びホスホロチオエートヌクレオシド間結合（「s」）である。ある特定の実施形態では、ホスホジエステルヌクレオシド間結合（「o」）及びホスホロチオエートヌクレオシド間結合（「s」）は、5'から3'に、soooooosoooooooooooooooss、またはsoooooosooooooooooooooossの順に配置される。

【 0 2 5 6 】

配列番号 61、85、及び 125 の核酸塩基配列は、配列番号 2 の核酸塩基 6, 597 ~ 6, 619 に対して相補的である。

【 0 2 5 7 】

ある特定の実施形態では、配列番号 2 の核酸塩基 6, 597~6, 619 に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、ATXN3 YACトランスジェニックマウスモデルにおける脊髄組織中の ATXN3 RNA の最低 57% の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脊髄組織中の ATXN3 RNA の平均 70% の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脊髄組織中の ATXN3 RNA の最大 78% の減少を達成する。

【 0 2 5 8 】

ある特定の実施形態では、配列番号 2 の核酸塩基 6，597～6，619 に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、ATXN3 YACトランスジェニックマウスモデルにおける皮質組織中の ATXN3 RNA の最低 48 % の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、皮質組織中の ATXN3 RNA の平均 67 % の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、皮質組織中の ATXN3 RNA の最大 82 % の減少を達成する。

【 0 2 5 9 】

ある特定の実施形態では、配列番号 2 の核酸塩基 6，597～6，619 に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、ATXN3 YACトランスジェニックマウスモデルにおける小脳組織中の ATXN3 RNA の最低 9 % の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、小脳組織中の ATXN3 RNA の平均 51 % の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、小脳組織中の ATXN3 RNA の最大 78 % の減少を達成する。

【 0 2 6 0 】

ある特定の実施形態では、配列番号 2 の核酸塩基 6, 597 ~ 6, 619 に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、ATXN3 YACトランスジェニックマウスモデルにおける脳幹組織中の ATXN3 RNA の最低 53 % の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脳幹組織中の ATXN3 RNA の平均 69 % の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脳幹組織中の ATXN3 RNA の最大 77 % の減少を達成する。

【 0 2 6 1 】

2. 配列番号2の核酸塩基15, 664~15, 689

ある特定の実施形態では、配列番号 2 の核酸塩基 15, 664~15, 689 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 2 の核酸塩基 15, 664~15, 689 に対して相補的である。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、修飾オリゴヌクレオチドは、改変ギャップマーである。

【 0 2 6 2 】

ある特定の実施形態では、ギャップマーは、5-10-5 MOEギャップマーである。
ある特定の実施形態では、ギャップマーは、6-10-4 MOEギャップマーである。
ある特定の実施形態では、ギャップマーは、ギャップ内に2'置換ヌクレオシドを含む。

ある特定の実施形態では、2'置換ヌクレオシドは、2'-OMe糖部分を含む。ある特定の
 実施形態では、2'置換ヌクレオシドは、ギャップの2位(5'から3'に)にある。ある
 特定の実施形態では、2'置換ヌクレオシドは、ギャップの5位(5'から3'に)にある。
 ある特定の実施形態では、改変ギャップマーは、5'から3'に、e e e e e d y d d
 d d d d d e e e e e または e e e e e d d d d y d d d d d e e e e e の順に糖モチ
 ーフを有し、ここで、「e」が各々、2'-MOE糖部分を含むヌクレオシドであり、「
 y」が各々、2'-OMe糖部分を含むヌクレオシドであり、「d」が各々、2'-β-D
 -デオキシリボシル糖部分を含むヌクレオシドである。

【0263】

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間結合は、ホスホジエ
 ステルヌクレオシド間結合(「o」)及びホスホロチオエートヌクレオシド間結合(「s
 」)である。ある特定の実施形態では、ホスホジエステルヌクレオシド間結合(「o」)
 及びホスホロチオエートヌクレオシド間結合(「s」)は、5'から3'に、s o o o s s
 s s s s s s s s s s o o s s または s o o o o o s s s s s s s s s s s s o s s の順に配置
 される。

10

【0264】

配列番号68、69、70、71、72、122、及び139の核酸塩基配列は、配列番
 号2の核酸塩基15，664～15，689に対して相補的である。

【0265】

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基15，664～15，689に対して相
 補的な修飾オリゴヌクレオチドは、ATXN3 YACトランスジェニックマウスモデル
 における脊髄組織中のATXN3 RNAの最低56%の減少を達成する。ある特定の
 実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脊髄組織中のATXN3 RNAの平均70%
 の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脊髄組織中の
 ATXN3 RNAの最大82%の減少を達成する。

20

【0266】

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基15，664～15，689に対して相
 補的な修飾オリゴヌクレオチドは、ATXN3 YACトランスジェニックマウスモデル
 における皮質組織中のATXN3 RNAの最低29%の減少を達成する。ある特定の
 実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、皮質組織中のATXN3 RNAの平均62%
 の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、皮質組織中の
 ATXN3 RNAの最大86%の減少を達成する。

30

【0267】

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基15，664～15，689に対して相
 補的な修飾オリゴヌクレオチドは、ATXN3 YACトランスジェニックマウスモデル
 における小脳組織中のATXN3 RNAの最低13%の減少を達成する。ある特定の
 実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、小脳組織中のATXN3 RNAの平均36%
 の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、小脳組織中の
 ATXN3 RNAの最大73%の減少を達成する。

【0268】

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基15，664～15，689に対して相
 補的な修飾オリゴヌクレオチドは、ATXN3 YACトランスジェニックマウスモデル
 における脳幹組織中のATXN3 RNAの最低43%の減少を達成する。ある特定の
 実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脳幹組織中のATXN3 RNAの平均65%
 の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脳幹組織中の
 ATXN3 RNAの最大86%の減少を達成する。

40

【0269】

3. 配列番号2の核酸塩基19，451～19，476

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基19，451～19，476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2

50

の核酸塩基 19, 451~19, 476 に対して相補的である。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、修飾オリゴヌクレオチドは、改変ギャップマーである。

【0270】

ある特定の実施形態では、ギャップマーは、5-10-5 MOE ギャップマーである。ある特定の実施形態では、ギャップマーは、6-10-4 MOE ギャップマーである。ある特定の実施形態では、ギャップマーは、ギャップ内に 2' 置換ヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、2' 置換ヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の実施形態では、2' 置換ヌクレオシドは、ギャップの 2 位 (5' から 3' に) にある。ある特定の実施形態では、2' 置換ヌクレオシドは、ギャップの 4 位 (5' から 3' に) にある。ある特定の実施形態では、改変ギャップマーは、5' から 3' に、e e e e e d y d d d d d d d d e e e e e または e e e e e d d d y d d d d d d e e e e e の順に糖モチーフを有し、ここで、「e」が各々、2'-MOE 糖部分を含むヌクレオシドであり、「y」が各々、2'-OMe 糖部分を含むヌクレオシドであり、「d」が各々、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を含むヌクレオシドである。

【0271】

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間結合は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合 (「o」) 及びホスホロチオエートヌクレオシド間結合 (「s」) である。ある特定の実施形態では、ホスホジエステルヌクレオシド間結合 (「o」) 及びホスホロチオエートヌクレオシド間結合 (「s」) は、5' から 3' に、s o o o s s s s s s s s s s s s o o s s s、s o o o o o o s s s s s s s s s s s o s s s、または s o s s s s s s s s s s s s s s s s o s s s の順に配置される。

【0272】

配列番号 59、62、66、75、76、138、及び 140 の核酸塩基配列は、配列番号 2 の核酸塩基 19, 451~19, 476 に対して相補的である。

【0273】

ある特定の実施形態では、配列番号 2 の核酸塩基 19, 451~19, 476 に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、ATXN3 YAC トランスジェニックマウスモデルにおける脊髄組織中の ATXN3 RNA の最低 42% の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脊髄組織中の ATXN3 RNA の平均 66% の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脊髄組織中の ATXN3 RNA の最大 81% の減少を達成する。

【0274】

ある特定の実施形態では、配列番号 2 の核酸塩基 19, 451~19, 476 に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、ATXN3 YAC トランスジェニックマウスモデルにおける皮質組織中の ATXN3 RNA の最低 50% の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、皮質組織中の ATXN3 RNA の平均 66% の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、皮質組織中の ATXN3 RNA の最大 86% の減少を達成する。

【0275】

ある特定の実施形態では、配列番号 2 の核酸塩基 19, 451~19, 476 に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、ATXN3 YAC トランスジェニックマウスモデルにおける小脳組織中の ATXN3 RNA の最低 18% の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、小脳組織中の ATXN3 RNA の平均 38% の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、小脳組織中の ATXN3 RNA の最大 53% の減少を達成する。

【0276】

ある特定の実施形態では、配列番号 2 の核酸塩基 19, 451~19, 476 に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、ATXN3 YAC トランスジェニックマウスモデル

における脳幹組織中の A T X N 3 RNA の最低 29 % の減少を達成する。ある特定の
実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脳幹組織中の A T X N 3 RNA の平均 64 %
の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脳幹組織中の
A T X N 3 RNA の最大 80 % の減少を達成する。

【0277】

4. 配列番号 2 の核酸塩基 30, 448~30, 473

ある特定の実施形態では、配列番号 2 の核酸塩基 30, 448~30, 473 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 2
の核酸塩基 30, 448~30, 473 に対して相補的である。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。

10

【0278】

ある特定の実施形態では、ギャップマーは、5-10-5 MOE ギャップマーである。

【0279】

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間結合は、ホスホジエ
ステルヌクレオシド間結合（「o」）及びホスホロチオエートヌクレオシド間結合（「s
」）である。ある特定の実施形態では、ホスホジエステルヌクレオシド間結合（「o」）
及びホスホロチオエートヌクレオシド間結合（「s」）は、5' から 3' に、s o o o s s
s s s s s s s s s s o o s s または s o s s s s s s s s s s s s s s s o s s の順に配置
される。

20

【0280】

配列番号 65、116、117、118、119、及び 120 の核酸塩基配列は、配列番
号 2 の核酸塩基 30, 448~30, 473 に対して相補的である。

【0281】

ある特定の実施形態では、配列番号 2 の核酸塩基 30, 448~30, 473 に対して相
補的な修飾オリゴヌクレオチドは、A T X N 3 Y A C トランスジェニックマウスモデル
における脊髄組織中の A T X N 3 RNA の最低 57 % の減少を達成する。ある特定の
実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脊髄組織中の A T X N 3 RNA の平均 70 %
の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脊髄組織中の
A T X N 3 RNA の最大 83 % の減少を達成する。

30

【0282】

ある特定の実施形態では、配列番号 2 の核酸塩基 30, 448~30, 473 に対して相
補的な修飾オリゴヌクレオチドは、A T X N 3 Y A C トランスジェニックマウスモデル
における皮質組織中の A T X N 3 RNA の最低 52 % の減少を達成する。ある特定の
実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、皮質組織中の A T X N 3 RNA の平均 71 %
の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、皮質組織中の
A T X N 3 RNA の最大 85 % の減少を達成する。

【0283】

ある特定の実施形態では、配列番号 2 の核酸塩基 30, 448~30, 473 に対して相
補的な修飾オリゴヌクレオチドは、A T X N 3 Y A C トランスジェニックマウスモデル
における小脳組織中の A T X N 3 RNA の最低 23 % の減少を達成する。ある特定の
実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、小脳組織中の A T X N 3 RNA の平均 33 %
の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、小脳組織中の
A T X N 3 RNA の最大 45 % の減少を達成する。

40

【0284】

ある特定の実施形態では、配列番号 2 の核酸塩基 30, 448~30, 473 に対して相
補的な修飾オリゴヌクレオチドは、A T X N 3 Y A C トランスジェニックマウスモデル
における脳幹組織中の A T X N 3 RNA の最低 65 % の減少を達成する。ある特定の
実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脳幹組織中の A T X N 3 RNA の平均 75 %
の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脳幹組織中の

50

A T X N 3 RNAの最大86%の減少を達成する。

【0285】

5. 配列番号2の核酸塩基32, 940~32, 961

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基32, 940~32, 961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2の核酸塩基32, 940~32, 961に対して相補的である。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。

【0286】

ある特定の実施形態では、ギャップマーは、5-10-5 MOEギャップマーである。

10

ある特定の実施形態では、ギャップマーは、6-10-4 MOEギャップマーである。

【0287】

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間結合は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合(「o」)及びホスホロチオエートヌクレオシド間結合(「s」)である。ある特定の実施形態では、ホスホジエステルヌクレオシド間結合(「o」)及びホスホロチオエートヌクレオシド間結合(「s」)は、5'から3'に、s o o o o o o s s s s s s s s s s s o s s または s o o o s s s s s s s s s s s s s s s o o s s の順に配置される。

【0288】

配列番号38、46、及び123の核酸塩基配列は、配列番号2の核酸塩基32, 940~32, 961に対して相補的である。

20

【0289】

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基32, 940~32, 961に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、A T X N 3 Y A C トランスジェニックマウスモデルにおける脊髄組織中のA T X N 3 RNAの最低67%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脊髄組織中のA T X N 3 RNAの平均73%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脊髄組織中のA T X N 3 RNAの最大77%の減少を達成する。

【0290】

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基32, 940~32, 961に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、A T X N 3 Y A C トランスジェニックマウスモデルにおける皮質組織中のA T X N 3 RNAの最低68%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、皮質組織中のA T X N 3 RNAの平均76%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、皮質組織中のA T X N 3 RNAの最大86%の減少を達成する。

30

【0291】

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基32, 940~32, 961に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、A T X N 3 Y A C トランスジェニックマウスモデルにおける小脳組織中のA T X N 3 RNAの最低27%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、小脳組織中のA T X N 3 RNAの平均49%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、小脳組織中のA T X N 3 RNAの最大72%の減少を達成する。

40

【0292】

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基32, 940~32, 961に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、A T X N 3 Y A C トランスジェニックマウスモデルにおける脳幹組織中のA T X N 3 RNAの最低65%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脳幹組織中のA T X N 3 RNAの平均74%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脳幹組織中のA T X N 3 RNAの最大79%の減少を達成する。

【0293】

50

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 2 の核酸塩基 37, 151~37, 172 に対して相補的である。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、修飾オリゴヌクレオチドは、改変ギャップマーである。

【0302】

ある特定の実施形態では、ギャップマーは、5-10-5 MOE ギャップマーである。ある特定の実施形態では、ギャップマーは、6-10-4 MOE ギャップマーである。ある特定の実施形態では、ギャップマーは、ギャップ内に 2' 置換ヌクレオシドを含む。ある特定の 10
実施形態では、2' 置換ヌクレオシドは、2'-OMe 糖部分を含む。ある特定の
実施形態では、2' 置換ヌクレオシドは、ギャップの 1 位 (5' から 3' に) にある。ある特定の
実施形態では、2' 置換ヌクレオシドは、ギャップの 2 位 (5' から 3' に) にある。ある特定の
実施形態では、改変ギャップマーは、5' から 3' に、e e e e e y d d d
d d d d d e e e e e または e e e e e d y d d d d d d d d e e e e e の順に糖モチ
ーフを有し、ここで、「e」が各々、2'-MOE 糖部分を含むヌクレオシドであり、「
y」が各々、2'-OMe 糖部分を含むヌクレオシドであり、「d」が各々、2'-β-D
デオキシリボシル糖部分を含むヌクレオシドである。

【0303】

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間結合は、ホスホジエ
ステルヌクレオシド間結合 (「o」) 及びホスホロチオエートヌクレオシド間結合 (「s」 20
」) である。ある特定の実施形態では、ホスホジエステルヌクレオシド間結合 (「o」)
及びホスホロチオエートヌクレオシド間結合 (「s」) は、5' から 3' に、s o o o s s
s s s s s s s s s s o o s s、s o o o o o s s s s s s s s s s s s s s o s s、または s o s
s s s s s s s s s s s s s s s s o s s の順に配置される。

【0304】

配列番号 17、44、及び 60 の核酸塩基配列は、配列番号 2 の核酸塩基 37, 151~
37, 172 に対して相補的である。

【0305】

ある特定の実施形態では、配列番号 2 の核酸塩基 37, 151~37, 172 に対して相
補的な修飾オリゴヌクレオチドは、ATXN3 YAC トランスジェニックマウスモデル 30
における脊髄組織中の ATXN3 RNA の最低 54% の減少を達成する。ある特定の
実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脊髄組織中の ATXN3 RNA の平均 71%
の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脊髄組織中の
ATXN3 RNA の最大 81% の減少を達成する。

【0306】

ある特定の実施形態では、配列番号 2 の核酸塩基 37, 151~37, 172 に対して相
補的な修飾オリゴヌクレオチドは、ATXN3 YAC トランスジェニックマウスモデル
における皮質組織中の ATXN3 RNA の最低 50% の減少を達成する。ある特定の
実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、皮質組織中の ATXN3 RNA の平均 68% 40
の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、皮質組織中の
ATXN3 RNA の最大 76% の減少を達成する。

【0307】

ある特定の実施形態では、配列番号 2 の核酸塩基 37, 151~37, 172 に対して相
補的な修飾オリゴヌクレオチドは、ATXN3 YAC トランスジェニックマウスモデル
における小脳組織中の ATXN3 RNA の最低 18% の減少を達成する。ある特定の
実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、小脳組織中の ATXN3 RNA の平均 42%
の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、小脳組織中の
ATXN3 RNA の最大 69% の減少を達成する。

【0308】

ある特定の実施形態では、配列番号 2 の核酸塩基 37, 151~37, 172 に対して相 50

補的な修飾オリゴヌクレオチドは、A T X N 3 Y A C トランスジェニックマウスモデルにおける脳幹組織中のA T X N 3 R N A の最低53%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脳幹組織中のA T X N 3 R N A の平均71%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脳幹組織中のA T X N 3 R N A の最大83%の減少を達成する。

【0309】

8. 配列番号2の核酸塩基43, 647~43, 674

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基43, 647~43, 674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2の核酸塩基43, 647~43, 674に対して相補的である。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。

【0310】

ある特定の実施形態では、ギャップマーは、5-10-5 MOEギャップマーである。

【0311】

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間結合は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合(「o」)及びホスホロチオエートヌクレオシド間結合(「s」)である。ある特定の実施形態では、ホスホジエステルヌクレオシド間結合(「o」)及びホスホロチオエートヌクレオシド間結合(「s」)は、5'から3'に、s o o o s s s s s s s s s s s o o s s の順に配置される。

【0312】

配列番号131、132、133、134、及び135の核酸塩基配列は、配列番号2の核酸塩基43, 647~43, 674に対して相補的である。

【0313】

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基43, 647~43, 674に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、A T X N 3 Y A C トランスジェニックマウスモデルにおける脊髄組織中のA T X N 3 R N A の最低28%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脊髄組織中のA T X N 3 R N A の平均39%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脊髄組織中のA T X N 3 R N A の最大54%の減少を達成する。

【0314】

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基43, 647~43, 674に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、A T X N 3 Y A C トランスジェニックマウスモデルにおける皮質組織中のA T X N 3 R N A の最低44%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、皮質組織中のA T X N 3 R N A の平均55%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、皮質組織中のA T X N 3 R N A の最大74%の減少を達成する。

【0315】

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基43, 647~43, 674に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、A T X N 3 Y A C トランスジェニックマウスモデルにおける小脳組織中のA T X N 3 R N A の最低39%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、小脳組織中のA T X N 3 R N A の平均60%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、小脳組織中のA T X N 3 R N A の最大72%の減少を達成する。

【0316】

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基43, 647~43, 674に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、A T X N 3 Y A C トランスジェニックマウスモデルにおける脳幹組織中のA T X N 3 R N A の最低61%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脳幹組織中のA T X N 3 R N A の平均66%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脳幹組織中の

50

10. 配列番号2の核酸塩基46, 748~46, 785

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基46, 748~46, 785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2の核酸塩基46, 748~46, 785に対して相補的である。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。

【0326】

ある特定の実施形態では、ギャップマーは、5-10-5 MOEギャップマーである。

【0327】

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間結合は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合(「o」)及びホスホロチオエートヌクレオシド間結合(「s」)である。ある特定の実施形態では、ホスホジエステルヌクレオシド間結合(「o」)及びホスホロチオエートヌクレオシド間結合(「s」)は、5'から3'に、s o o o s s s s s s s s s s s o o s sの順に配置される。

10

【0328】

配列番号94、95、96、97、98、99、100、及び101の核酸塩基配列は、配列番号2の核酸塩基46, 748~46, 785に対して相補的である。

【0329】

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基46, 748~46, 785に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、ATXN3 YACトランスジェニックマウスモデルにおける脊髄組織中のATXN3 RNAの最低36%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脊髄組織中のATXN3 RNAの平均51%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脊髄組織中のATXN3 RNAの最大62%の減少を達成する。

20

【0330】

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基46, 748~46, 785に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、ATXN3 YACトランスジェニックマウスモデルにおける皮質組織中のATXN3 RNAの最低41%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、皮質組織中のATXN3 RNAの平均58%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、皮質組織中のATXN3 RNAの最大72%の減少を達成する。

30

【0331】

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基46, 748~46, 785に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、ATXN3 YACトランスジェニックマウスモデルにおける小脳組織中のATXN3 RNAの最低23%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、小脳組織中のATXN3 RNAの平均36%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、小脳組織中のATXN3 RNAの最大50%の減少を達成する。

【0332】

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基46, 748~46, 785に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドは、ATXN3 YACトランスジェニックマウスモデルにおける脳幹組織中のATXN3 RNAの最低30%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脳幹組織中のATXN3 RNAの平均47%の減少を達成する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、脳幹組織中のATXN3 RNAの最大57%の減少を達成する。

40

【0333】

11. 配列番号2の核酸塩基47, 594~47, 619

ある特定の実施形態では、配列番号2の核酸塩基47, 594~47, 619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2の核酸塩基47, 594~47, 619に対して相補的である。ある特定の実施形態では

50

10

20

[illegible]

以下の表に列記される修飾オリゴヌクレオチドは各々、示されるように、ヒトATXN3 核酸配列の配列番号1 (GENBANK受託番号NM__004993.5)、配列番号2 (ヌクレオチド92, 056, 001~92, 110, 000から切断されたGENBANK受託番号NC__000014.9の相補体)、または配列番号3 (ヌクレオチド92 038001~92110000から切断されたGENBANK受託番号NC__000014.9の相補体) に対して相補的である。「N/A」は、修飾オリゴヌクレオチドがその特定の核酸に対して100%相補的ではないことを示す。

ヒト A T X N 3 に対して相補的な混合型 P O / P S ヌクレオシド間結合を有する M O E ギャップマー

【表 1 - 1】

化合物番号	配列 (5' から 3' に)	ギャップ プーマー モチーフ	配列 番号 1 開始 部位	配列 番号 1 終止 部位	配列 番号 2 開始 部位	配列 番号 2 終止 部位	化学表記法 (5' から 3' に)	配列 番号
1248258	ATAGAATGGC ACATTTTTTA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	37159	37178	$A_{cs}T_{co}A_{co}G_{co}A_{cs}A_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}^mC_{ds}A_{ds}$ $^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{co}T_{co}T_{cs}T_{cs}A_e$	11
1248259	AACCCAATAA TCTGACATCC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32927	32946	$A_{cs}A_{co}^mC_{co}^mC_{co}^mC_{cs}A_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $^mC_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}^mC_{co}A_{co}T_{cs}^mC_{cs}^mC_e$	12
1248261	AATAATCTGA CATCCTCAGA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32922	32941	$A_{cs}A_{co}T_{co}A_{co}A_{cs}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}^mC_{ds}$ $A_{ds}T_{ds}^mC_{ds}^mC_{ds}T_{co}^mC_{co}A_{cs}G_{cs}A_e$	13
1248262	AATAGAATGG CACATTTTTT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	37160	37179	$A_{cs}A_{co}T_{co}A_{co}G_{cs}A_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}^mC_{ds}$ $A_{ds}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{co}T_{co}T_{cs}T_{cs}T_e$	14
1248264	TTTTATAGAGT TCCTCTCAA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	37144	37163	$T_{cs}T_{co}T_{co}T_{co}A_{cs}T_{ds}A_{ds}G_{ds}A_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $^mC_{ds}^mC_{ds}T_{ds}^mC_{co}T_{co}^mC_{cs}A_{cs}A_e$	15
1248265	TTTAACCCAAT AATCTGACA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32930	32949	$T_{cs}T_{co}T_{co}A_{co}A_{cs}^mC_{ds}^mC_{ds}^mC_{ds}A_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $sA_{ds}A_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{co}G_{co}A_{cs}^mC_{cs}A_e$	16
1248266	GCACATTTTTT ATAGAGTTC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	37151	37170	$G_{cs}^mC_{co}A_{co}^mC_{co}A_{cs}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $A_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}A_{co}G_{co}T_{cs}T_{cs}^mC_e$	17
1248267	AGAATGGCAC ATTTTTTATA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	37157	37176	$A_{cs}G_{co}A_{co}A_{co}T_{cs}G_{ds}G_{ds}^mC_{ds}A_{ds}^mC_{ds}A_{ds}$ $sT_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{co}T_{co}A_{cs}T_{cs}A_e$	18
1248268	TTTTTTATAGA GTTCTCTC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	37146	37165	$T_{cs}T_{co}T_{co}T_{co}T_{cs}T_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}A_{ds}G_{ds}$ $T_{ds}T_{ds}^mC_{ds}^mC_{co}T_{co}^mC_{cs}T_{cs}^mC_e$	19
1248269	TTAACCCAAT AATCTGACAT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32929	32948	$T_{cs}T_{co}A_{co}A_{co}^mC_{cs}^mC_{ds}^mC_{ds}A_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $dsA_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}G_{co}A_{co}^mC_{cs}A_{cs}T_e$	20
1248271	AATGGCACAT TTTTTATAGA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	37155	37174	$A_{cs}A_{co}T_{co}G_{co}G_{cs}^mC_{ds}A_{ds}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{co}T_{co}A_{cs}G_{cs}A_e$	21
1248273	CTTTAACCCAA TAATCTGAC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32931	32950	$^mC_{cs}T_{co}T_{co}T_{co}A_{cs}A_{ds}^mC_{ds}^mC_{ds}^mC_{ds}A_{ds}$ $A_{ds}T_{ds}A_{ds}A_{ds}T_{ds}^mC_{co}T_{co}G_{cs}A_{cs}^mC_e$	22
1248275	ATCCTTTAACC CAATAATCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32934	32953	$A_{cs}T_{co}^mC_{co}^mC_{co}T_{cs}T_{ds}T_{ds}A_{ds}A_{ds}^mC_{ds}^m$ $C_{ds}^mC_{ds}A_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{co}A_{co}T_{cs}^mC_{cs}T_e$	23
1248276	TTATAGAGTTC CTCTCAATT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	37142	37161	$T_{cs}T_{co}A_{co}T_{co}A_{cs}G_{ds}A_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}^mC_{ds}^m$ $C_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}^mC_{co}A_{co}A_{cs}T_{cs}T_e$	24
1248277	ATATCCTTTAA CCCAATAAT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32936	32955	$A_{cs}T_{co}A_{co}T_{co}^mC_{cs}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}A_{ds}$ $^mC_{ds}^mC_{ds}^mC_{ds}A_{ds}A_{co}T_{co}A_{cs}A_{cs}T_e$	25

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

1248278	CACATTTTTTA TAGAGTTCC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	37150	37169	${}^m\text{C}_{\text{cs}}\text{A}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{cs}}{}^m\text{C}_{\text{cs}}{}^m\text{C}_{\text{c}}$	26
1248257	CTCAAGTACTT GTGCAAGGC	5-10-5 MOE	1852	1871	46378	46397	${}^m\text{C}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{cs}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{d}}$ ${}^m\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{G}_{\text{cs}}\text{G}_{\text{cs}}{}^m\text{C}_{\text{c}}$	27
1248260	TCTCAAGTACT TGTGCAAGG	5-10-5 MOE	1853	1872	46379	46398	$\text{T}_{\text{cs}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{cs}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{d}}$ ${}^m\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{cs}}\text{G}_{\text{cs}}\text{G}_{\text{c}}$	28
1248263	TGGTTTTCTCA TTTTTATAT	5-10-5 MOE	3068	3087	47594	47613	$\text{T}_{\text{cs}}\text{G}_{\text{co}}\text{G}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{cs}}\text{A}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{c}}$	29
1248270	TATTCTCAAGT ACTTGTGCA	5-10-5 MOE	1856	1875	46382	46401	$\text{T}_{\text{cs}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{G}_{\text{cs}}{}^m\text{C}_{\text{cs}}\text{A}_{\text{c}}$	30
1248272	TAAAAAATGC TCATTATTC	5-10-5 MOE	1871	1890	46397	46416	$\text{T}_{\text{cs}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{cs}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m$ $\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{cs}}{}^m\text{C}_{\text{c}}$	31
1248274	TGCTCATTTAT TCTCAAGTA	5-10-5 MOE	1864	1883	46390	46409	$\text{T}_{\text{cs}}\text{G}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{cs}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{G}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{cs}}\text{A}_{\text{c}}$	32
1248279	TAACCCAATA ATCTGACATC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32928	32947	$\text{T}_{\text{cs}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{cs}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{cs}}{}^m\text{C}_{\text{c}}$	33
1248280	TATCCTTTAAC CCAATAATC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32935	32954	$\text{T}_{\text{cs}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{d}}$ ${}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{cs}}{}^m\text{C}_{\text{c}}$	34
1248281	CCTTTAACCCA ATAATCTGA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32932	32951	${}^m\text{C}_{\text{cs}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{cs}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}$ $\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{cs}}\text{G}_{\text{cs}}\text{A}_{\text{c}}$	35
1248282	ATAATCTGAC ATCCTCAGAA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32921	32940	$\text{A}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{cs}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{G}_{\text{cs}}\text{A}_{\text{cs}}\text{A}_{\text{c}}$	36
1248283	GGTTTTCTCAT TTTTATATT	5-10-5 MOE	3067	3086	47593	47612	$\text{G}_{\text{cs}}\text{G}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{c}}$	37
1248284	TGTTTCATATCC TTTAACCCA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32941	32960	$\text{T}_{\text{cs}}\text{G}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{cs}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{d}}$ ${}^m\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{cs}}{}^m\text{C}_{\text{cs}}\text{A}_{\text{c}}$	38
1248285	TCAAGTACTTG TGCAAGGCT	5-10-5 MOE	1851	1870	46377	46396	$\text{T}_{\text{cs}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{G}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{co}}\text{G}_{\text{co}}\text{G}_{\text{cs}}{}^m\text{C}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{c}}$	39
1248286	CATTTTTTATA GAGTTCCTC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	37148	37167	${}^m\text{C}_{\text{cs}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}$ ${}^m\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{cs}}{}^m\text{C}_{\text{c}}$	40
1248287	CCCAATAATCT GACATCCTC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32925	32944	${}^m\text{C}_{\text{cs}}{}^m\text{C}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{cs}}{}^m\text{C}_{\text{c}}$	41
1248288	ACCAATAAT CTGACATCCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32926	32945	$\text{A}_{\text{cs}}{}^m\text{C}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{cs}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m$ $\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{cs}}{}^m\text{C}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{c}}$	42

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

1248289	AATGTTTCATAT CCTTTAACC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32943	32962	$A_{es}A_{co}T_{co}G_{co}T_{es}T_{ds}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}^m$ $C_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{co}A_{co}A_{es}^mC_{es}^mC_e$	43
1248290	GGCACATTTT TATAGAGTT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	37152	37171	$G_{es}G_{co}^mC_{co}A_{co}^mC_{es}A_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{co}A_{co}G_{es}T_{es}T_e$	44
1248291	AAGTACTTGT GCAAGGCTGA	5-10-5 MOE	1849	1868	46375	46394	$A_{es}A_{co}G_{co}T_{co}A_{es}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}G_{ds}^m$ $C_{ds}A_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{co}^mC_{co}T_{es}G_{es}A_e$	45
1248292	ATGTTTCATATC CTTTAACCC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32942	32961	$A_{es}T_{co}G_{co}T_{co}T_{es}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}^mC_{ds}$ $^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{co}A_{co}^mC_{es}^mC_{es}^mC_e$	46
1248293	TTTTTATAGAG TTCCTCTCA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	37145	37164	$T_{es}T_{co}T_{co}T_{co}T_{es}A_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}A_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}^mC_{ds}^mC_{ds}T_{co}^mC_{co}T_{es}^mC_{es}A_e$	47
1248297	ACATTTTTTAT AGAGTTCCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	37149	37168	$A_{es}^mC_{co}A_{co}T_{co}T_{es}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $G_{ds}A_{ds}G_{ds}T_{co}T_{co}^mC_{es}^mC_{es}T_e$	48
1248298	AATCTGACAT CCTCAGAAAA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32919	32938	$A_{es}A_{co}T_{co}^mC_{co}T_{es}G_{ds}A_{ds}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}^mC_{ds}$ $ds^mC_{ds}T_{ds}^mC_{ds}A_{ds}G_{co}A_{co}A_{es}A_{es}A_e$	49
1247564	GCAATTTGGTT TTCTCATT	5-10-5 MOE	3074	3093	47600	47619	$G_{es}^mC_{co}A_{co}T_{co}A_{co}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}^mC_{co}A_{co}T_{es}T_{es}T_e$	50
1247565	GCAATTTGGTT TTCTCATT	5-10-5 MOE	3074	3093	47600	47619	$G_{es}^mC_{co}A_{co}T_{co}A_{co}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}^mC_{co}A_{co}T_{co}T_{es}T_e$	50
1247566	GCAATTTGGTT TTCTCATT	5-10-5 MOE	3074	3093	47600	47619	$G_{es}^mC_{co}A_{co}T_{co}A_{es}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}^mC_{co}A_{co}T_{co}T_{es}T_e$	50
1247567	CATATTTGGTTT TCTCATT	5-9-5 MOE	3074	3092	47600	47618	$^mC_{es}A_{co}T_{co}A_{co}T_{es}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $ds^mC_{ds}T_{ds}^mC_{co}A_{co}T_{es}T_{es}T_e$	51
1247568	GCAATTTGGTT TTCTCATT	5-9-5 MOE	3075	3093	47601	47619	$G_{es}^mC_{co}A_{co}T_{co}A_{es}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}^mC_{ds}T_{co}^mC_{co}A_{es}T_{es}T_e$	52
1248294	TTCTCAAGTAC TTGTGCAAG	5-10-5 MOE	1854	1873	46380	46399	$T_{es}T_{co}^mC_{co}T_{co}^mC_{es}A_{ds}A_{ds}G_{ds}T_{ds}A_{ds}^mC_{ds}$ $sT_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}G_{co}^mC_{co}A_{es}A_{es}G_e$	53
1248295	TTATTCTCAAG TACTTGTGC	5-10-5 MOE	1857	1876	46383	46402	$T_{es}T_{co}A_{co}T_{co}T_{es}^mC_{ds}T_{ds}^mC_{ds}A_{ds}A_{ds}G_{ds}$ $T_{ds}A_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{co}G_{co}T_{es}G_{es}^mC_e$	54
1248296	GTTTTCTCATT TTTATATTA	5-10-5 MOE	3066	3085	47592	47611	$G_{es}T_{co}T_{co}T_{co}T_{es}^mC_{ds}T_{ds}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{co}A_{co}T_{es}T_{es}A_e$	55
1248299	CAAGTACTTGT GCAAGGCTG	5-10-5 MOE	1850	1869	46376	46395	$^mC_{es}A_{co}A_{co}G_{co}T_{es}A_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $G_{ds}^mC_{ds}A_{ds}A_{ds}G_{co}G_{co}^mC_{es}T_{es}G_e$	56
1248300	ATTCTCAAGTA CTTGTGCAA	5-10-5 MOE	1855	1874	46381	46400	$A_{es}T_{co}T_{co}^mC_{co}T_{es}^mC_{ds}A_{ds}A_{ds}G_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{co}G_{co}^mC_{es}A_{es}A_e$	57

10

20

30

40

50

【表 1 - 4】

1269632	GCTCATTTATT CTCAAGTAC	5-10-5 MOE	1863	1882	46389	46408	$G_{cs}^m C_{co} T_{cs}^m C_{cs} A_{cs} T_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds} T_{ds} T_{ds}^m$ $C_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} A_{cs} G_{co} T_{cs} A_{cs}^m C_e$	58
1269633	TAATACTTTTT CCAGCCTTC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	19453	19472	$T_{cs} A_{co} A_{cs} T_{cs} A_{cs}^m C_{ds} T_{ds} T_{ds} T_{ds} T_{ds}^m$ $C_{ds}^m C_{ds} A_{ds} G_{ds}^m C_{cs}^m C_{co} T_{cs} T_{cs}^m C_e$	59
1269634	TGGCACATTTT TTATAGAGT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	37153	37172	$T_{cs} G_{co} G_{cs}^m C_{cs} A_{cs}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} T_{ds} T_{ds} T_{ds}$ $T_{ds} T_{ds} A_{ds} T_{ds} A_{cs} G_{co} A_{cs} G_{cs} T_e$	60
1269635	GCACCATATA TATCTCAGAA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	6597	6616	$G_{cs}^m C_{co} A_{cs}^m C_{cs}^m C_{cs} A_{ds} T_{ds} A_{ds} T_{ds} A_{ds} T_d$ $s A_{ds} T_{ds}^m C_{ds} T_{ds}^m C_{cs} A_{co} G_{cs} A_{cs} A_e$	61
1269636	GTTAATACTTT TTCCAGCCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	19455	19474	$G_{cs} T_{co} T_{cs} A_{cs} A_{cs} T_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{ds} T_{ds} T_d$ $s T_{ds}^m C_{ds}^m C_{ds} A_{cs} G_{co}^m C_{cs}^m C_{cs} T_e$	62
1269637	GCCAAAATAC TAACATCAGT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32676	32695	$G_{cs}^m C_{co}^m C_{cs} A_{cs} A_{cs} A_{ds} A_{ds} T_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T$ $ds A_{ds} A_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{cs}^m C_{co} A_{cs} G_{cs} T_e$	63
1269638	GTATAGAGTTT ACCTGCAGC	5-10-5 MOE	4142	4161	48668	48687	$G_{cs} T_{co} A_{cs} T_{cs} A_{cs} G_{ds} A_{ds} G_{ds} T_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds}$ $^m C_{ds}^m C_{ds} T_{ds} G_{cs}^m C_{co} A_{cs} G_{cs}^m C_e$	64
1269639	TGAGCCAATA TTTATAGGTG	5-10-5 MOE	N/A	N/A	30453	30472	$T_{cs} G_{co} A_{cs} G_{cs}^m C_{cs}^m C_{ds} A_{ds} A_{ds} T_{ds} A_{ds} T_{ds}$ $T_{ds} T_{ds} A_{ds} T_{ds} A_{cs} G_{co} G_{cs} T_{cs} G_e$	65
1269640	ATGTTAATACT TTTTCCAGC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	19457	19476	$A_{cs} T_{co} G_{cs} T_{cs} T_{cs} A_{ds} A_{ds} T_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T$ $ds T_{ds} T_{ds} T_{ds}^m C_{cs}^m C_{co} A_{cs} G_{cs}^m C_e$	66
1269481	AGAAGAGTGC TTTTCATACC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	15671	15690	$A_{cs} G_{co} A_{co} A_{co} G_{cs} A_{ds} G_{ds} T_{ds} G_{ds}^m C_{ds} T_{ds}$ $T_{ds} T_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{co} T_{co} A_{cs}^m C_{cs}^m C_e$	67
1269482	GAAGAGTGCT TTTTCATACCA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	15670	15689	$G_{cs} A_{co} A_{co} G_{co} A_{cs} G_{ds} T_{ds} G_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{ds}$ $T_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{co} A_{co}^m C_{cs}^m C_{cs} A_e$	68
1269483	AAGAGTGCTT TTCATACCAG	5-10-5 MOE	N/A	N/A	15669	15688	$A_{cs} A_{co} G_{co} A_{co} G_{cs} T_{ds} G_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{ds} T_{ds} T$ $ds^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} A_{co}^m C_{co}^m C_{cs} A_{cs} G_e$	69
1269484	AGAGTGCTTTT CATACCAGG	5-10-5 MOE	N/A	N/A	15668	15687	$A_{cs} G_{co} A_{co} G_{co} T_{cs} G_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{ds} T_{ds} T_{ds}^m$ $C_{ds} A_{ds} T_{ds} A_{ds}^m C_{co}^m C_{co} A_{cs} G_{cs} G_e$	70
1269485	GTGCTTTTCAT ACCAGGTCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	15665	15684	$G_{cs} T_{co} G_{co}^m C_{co} T_{cs} T_{ds} T_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds}$ $A_{ds}^m C_{ds}^m C_{ds} A_{ds} G_{co} G_{co} T_{cs}^m C_{cs} T_e$	71
1269486	TGCTTTTCATA CCAGGTCTC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	15664	15683	$T_{cs} G_{co}^m C_{co} T_{co} T_{cs} T_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} A_{ds}$ $^m C_{ds}^m C_{ds} A_{ds} G_{ds} G_{co} T_{co}^m C_{cs} T_{cs}^m C_e$	72
1269487	TTTTCATACCA GGTCTCTGA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	15661	15680	$T_{cs} T_{co} T_{co} T_{co}^m C_{cs} A_{ds} T_{ds} A_{ds}^m C_{ds}^m C_{ds} A_d$ $s G_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} T_{co}^m C_{co} T_{cs} G_{cs} A_e$	73
1269488	TCATACCAGG TCTCTGAGAT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	15658	15677	$T_{cs}^m C_{co} A_{co} T_{co} A_{cs}^m C_{ds}^m C_{ds} A_{ds} G_{ds} G_{ds} T$ $ds^m C_{ds} T_{ds}^m C_{ds} T_{ds} G_{co} A_{co} G_{cs} A_{cs} T_e$	74

10

20

30

40

50

【表 1 - 5】

1269495	TGTTAATACTT TTTCAGCC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	19456	19475	$T_{es}G_{co}T_{co}T_{co}A_{es}A_{ds}T_{ds}A_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}T_{ds}^mC_{ds}^mC_{co}A_{co}G_{es}^mC_{es}^mC_e$	75
1269496	ATACTTTTCC AGCCTTCTT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	19451	19470	$A_{es}T_{co}A_{co}^mC_{co}T_{es}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}^mC_{ds}^mC_{ds}$ $A_{ds}G_{ds}^mC_{ds}^mC_{ds}T_{co}T_{co}^mC_{es}T_{es}T_e$	76
1269636	GTTAATACTTT TTCCAGCCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	19455	19474	$G_{es}T_{co}T_{es}A_{es}A_{es}T_{ds}A_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}^mC_{ds}^mC_{ds}A_{es}G_{co}^mC_{es}^mC_{es}T_e$	62
1269450	GATAAACAGC ACCATATATA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	6605	6624	$G_{es}A_{co}T_{co}A_{co}A_{es}A_{ds}^mC_{ds}A_{ds}G_{ds}^mC_{ds}A_{ds}$ $s^mC_{ds}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{co}T_{co}A_{es}T_{es}A_e$	77
1269451	TAAACAGCAC CATATATATC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	6603	6622	$T_{es}A_{co}A_{co}A_{co}^mC_{es}A_{ds}G_{ds}^mC_{ds}A_{ds}^mC_{ds}^m$ $C_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{co}T_{co}A_{es}T_{es}^mC_e$	78
1269460	CCAAAATACT AACATCAGTC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32675	32694	$^mC_{es}^mC_{co}A_{co}A_{co}A_{es}A_{ds}T_{ds}A_{ds}^mC_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $dsA_{ds}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}^mC_{co}A_{co}G_{es}T_{es}^mC_e$	79
1269461	AAAATACTAA CATCAGTCAC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32673	32692	$A_{es}A_{co}A_{co}A_{co}T_{es}A_{ds}^mC_{ds}T_{ds}A_{ds}A_{ds}^mC_{ds}$ $A_{ds}T_{ds}^mC_{ds}A_{ds}G_{co}T_{co}^mC_{es}A_{es}^mC_e$	80
1269462	AAATACTAAC ATCAGTCACT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32672	32691	$A_{es}A_{co}A_{co}T_{co}A_{es}^mC_{ds}T_{ds}A_{ds}A_{ds}^mC_{ds}A_{ds}$ $T_{ds}^mC_{ds}A_{ds}G_{ds}T_{co}^mC_{co}A_{es}^mC_{es}T_e$	81
1269463	AATACTAACA TCAGTCACTG	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32671	32690	$A_{es}A_{co}T_{co}A_{co}^mC_{es}T_{ds}A_{ds}A_{ds}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $^mC_{ds}A_{ds}G_{ds}T_{ds}^mC_{co}A_{co}^mC_{es}T_{es}G_e$	82
1269464	ATACTAACAT CAGTCACTGA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32670	32689	$A_{es}T_{co}A_{co}^mC_{co}T_{es}A_{ds}A_{ds}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}^mC_{ds}$ $dsA_{ds}G_{ds}T_{ds}^mC_{ds}A_{co}^mC_{co}T_{es}G_{es}A_e$	83
1269477	AAACAGCACC ATATATATCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	6602	6621	$A_{es}A_{co}A_{co}^mC_{co}A_{es}G_{ds}^mC_{ds}A_{ds}^mC_{ds}^mC_{ds}$ $A_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{co}A_{co}T_{es}^mC_{es}T_e$	84
1269478	ACAGCACCAT ATATATCTCA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	6600	6619	$A_{es}^mC_{co}A_{co}G_{co}^mC_{es}A_{ds}^mC_{ds}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $A_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{co}^mC_{co}T_{es}^mC_{es}A_e$	85
1269479	CACCATATAT ATCTCAGAAA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	6596	6615	$^mC_{es}A_{co}^mC_{co}^mC_{co}A_{es}T_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $dsT_{ds}^mC_{ds}T_{ds}^mC_{ds}A_{co}G_{co}A_{es}A_{es}A_e$	86
1269480	ACCATATATAT CTCAGAAAC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	6595	6614	$A_{es}^mC_{co}^mC_{co}A_{co}T_{es}A_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $^mC_{ds}T_{ds}^mC_{ds}A_{ds}G_{co}A_{co}A_{es}A_{es}^mC_e$	87
1269489	ACATTACTGGT CAGTTTCCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	17188	17207	$A_{es}^mC_{co}A_{co}T_{co}T_{es}A_{ds}^mC_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^mC_{ds}A_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{co}T_{co}^mC_{es}^mC_{es}T_e$	88
1269490	CATTACTGGTC AGTTTCCTA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	17187	17206	$^mC_{es}A_{co}T_{co}T_{co}A_{es}^mC_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}^mC_{ds}$ $sA_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{co}^mC_{co}^mC_{es}T_{es}A_e$	89
1269491	ATTACTGGTCA GTTTCCTAA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	17186	17205	$A_{es}T_{co}T_{co}A_{co}^mC_{es}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}^mC_{ds}A_{ds}$ $G_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}^mC_{co}^mC_{co}T_{es}A_{es}A_e$	90

10

20

30

40

50

【表 1 - 6】

1269492	TACTGGTCAGT TTCCTAATT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	17184	17203	$T_{es}A_{co}{}^mC_{co}T_{co}G_{es}G_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}{}^mC_{ds}T_{co}A_{co}A_{es}T_{es}T_e$	91
1269493	ACTGGTCAGTT TCCTAATTT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	17183	17202	$A_{es}{}^mC_{co}T_{co}G_{co}G_{es}T_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}{}^mC_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}A_{co}A_{co}T_{es}T_{es}T_e$	92
1269494	CTGGTCAGTTT CCTAATTTT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	17182	17201	${}^mC_{es}T_{co}G_{co}G_{co}T_{es}{}^mC_{ds}A_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}$ ${}^mC_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}A_{ds}A_{co}T_{co}T_{es}T_{es}T_e$	93
1269442	ATTTTCATGTT CCAGATCAC	5-10-5 MOE	2240	2259	46766	46785	$A_{es}T_{co}T_{co}T_{co}T_{es}{}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^m$ $C_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}G_{ds}A_{co}T_{co}{}^mC_{es}A_{es}{}^mC_e$	94
1269443	CATGTTCCAG ATCACCATCT	5-10-5 MOE	2235	2254	46761	46780	${}^mC_{es}A_{co}T_{co}G_{co}T_{es}T_{ds}{}^mC_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}G_{ds}A$ $dsT_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}{}^mC_{co}A_{co}T_{es}{}^mC_{es}T_e$	95
1269444	TCCAGATCAC CATCTTTGAC	5-10-5 MOE	2230	2249	46756	46775	$T_{es}{}^mC_{co}{}^mC_{co}A_{co}G_{es}A_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}$ ${}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}T_{co}T_{co}G_{es}A_{es}{}^mC_e$	96
1269445	CAGATCACCA TCTTTGACAA	5-10-5 MOE	2228	2247	46754	46773	${}^mC_{es}A_{co}G_{co}A_{co}T_{es}{}^mC_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}$ $T_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{co}A_{co}{}^mC_{es}A_{es}A_e$	97
1269446	AGATCACCAT CTTTGACAAG	5-10-5 MOE	2227	2246	46753	46772	$A_{es}G_{co}A_{co}T_{co}{}^mC_{es}A_{ds}{}^mC_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}{}^m$ $C_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{co}{}^mC_{co}A_{es}A_{es}G_e$	98
1269447	GATCACCATCT TTGACAAGC	5-10-5 MOE	2226	2245	46752	46771	$G_{es}A_{co}T_{co}{}^mC_{co}A_{es}{}^mC_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}$ $T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{co}A_{co}A_{es}G_{es}{}^mC_e$	99
1269448	CACCATCTTTG ACAAGCTAT	5-10-5 MOE	2223	2242	46749	46768	${}^mC_{es}A_{co}{}^mC_{co}{}^mC_{co}A_{es}T_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $G_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}A_{ds}G_{co}{}^mC_{co}T_{es}A_{es}T_e$	100
1269449	ACCATCTTTGA CAAGCTATA	5-10-5 MOE	2222	2241	46748	46767	$A_{es}{}^mC_{co}{}^mC_{co}A_{co}T_{es}{}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}$ ${}^mC_{ds}A_{ds}A_{ds}G_{ds}{}^mC_{co}T_{co}A_{es}T_{es}A_e$	101
1269465	TACTAACATC AGTCACTGAA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32669	32688	$T_{es}A_{co}{}^mC_{co}T_{co}A_{es}A_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}A$ $dsG_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}{}^mC_{co}T_{co}G_{es}A_{es}A_e$	102
1269466	ATCACTGCAC ACTTTCCTCC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	34020	34039	$A_{es}T_{co}{}^mC_{co}A_{co}{}^mC_{es}T_{ds}G_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}$ $A_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^mC_{co}{}^mC_{co}T_{es}{}^mC_{es}{}^mC_e$	103
1269467	CACTGCACAC TTTCCTCCTC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	34018	34037	${}^mC_{es}A_{co}{}^mC_{co}T_{co}G_{es}{}^mC_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}$ ${}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}{}^mC_{ds}T_{co}{}^mC_{co}{}^mC_{es}T_{es}{}^mC_e$	104
1269468	ACTGCACACTT TCCTCCTCA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	34017	34036	$A_{es}{}^mC_{co}T_{co}G_{co}{}^mC_{es}A_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}{}^mC_{co}{}^mC_{co}T_{es}{}^mC_{es}A_e$	105
1269469	CTGCACACTTT CCTCCTCAA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	34016	34035	${}^mC_{es}T_{co}G_{co}{}^mC_{co}A_{es}{}^mC_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}{}^mC_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}{}^mC_{co}T_{co}{}^mC_{es}A_{es}A_e$	106
1269470	TGCACACTTTC CTCCTCAAT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	34015	34034	$T_{es}G_{co}{}^mC_{co}A_{co}{}^mC_{es}A_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^m$ $C_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}{}^mC_{ds}T_{co}{}^mC_{co}A_{es}A_{es}T_e$	107

10

20

30

40

50

【表 1 - 7】

1269471	CACACTTTCCT CCTCAATCA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	34013	34032	${}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{e}}$	108
1269472	ACACTTTCCTC CTCAATCAA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	34012	34031	$\text{A}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m$ $\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{es}}\text{A}_{\text{e}}$	109
1269473	CACTTTCCTCC TCAATCAAT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	34011	34030	${}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}$ ${}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{es}}\text{A}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$	110
1269474	ACTTTCCTCCT CAATCAATC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	34010	34029	$\text{A}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{e}}$	111
1269475	CTTTCCTCCTC AATCAATCC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	34009	34028	${}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ ${}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{e}}$	112
1269476	TTTCCTCCTCA ATCAATCCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	34008	34027	$\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}$ $\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$	113
1269452	AAATGAGCCA ATATTTATAG	5-10-5 MOE	N/A	N/A	30456	30475	$\text{A}_{\text{es}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{G}_{\text{es}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{d}}$ $\text{sT}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{es}}\text{A}_{\text{es}}\text{G}_{\text{e}}$	114
1269453	AATGAGCCAA TATTTATAGG	5-10-5 MOE	N/A	N/A	30455	30474	$\text{A}_{\text{es}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{G}_{\text{co}}\text{A}_{\text{es}}\text{G}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{es}}\text{G}_{\text{es}}\text{G}_{\text{e}}$	115
1269454	ATGAGCCAAT ATTTATAGGT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	30454	30473	$\text{A}_{\text{es}}\text{T}_{\text{co}}\text{G}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{G}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{G}_{\text{es}}\text{G}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$	116
1269455	AGCCAATATTT ATAGGTGCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	30451	30470	$\text{A}_{\text{es}}\text{G}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{es}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{G}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$	117
1269456	GCCAATATTTA TAGGTGCTG	5-10-5 MOE	N/A	N/A	30450	30469	$\text{G}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{es}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{co}}\text{G}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{G}_{\text{e}}$	118
1269457	CCAATATTTAT AGGTGCTGC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	30449	30468	${}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{es}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{es}}\text{G}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{e}}$	119
1269458	CAATATTTATA GGTGCTGCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	30448	30467	${}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{es}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}$ $\text{dsG}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{G}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$	120
1269459	ATATTTATAGG TGCTGCTAA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	30446	30465	$\text{A}_{\text{es}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{G}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{es}}\text{A}_{\text{es}}\text{A}_{\text{e}}$	121
1287089	AGTGCTTTTCA TACCAGGTC	6-10-4 MOE	N/A	N/A	15666	15685	$\text{A}_{\text{es}}\text{G}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{G}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{co}}\text{G}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{e}}$	122
1287090	GCTCATTTATT CTCAAGTAC	6-10-4 MOE	1863	1882	46389	46408	$\text{G}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ ${}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{co}}\text{T}_{\text{es}}\text{A}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{e}}$	58
1287091	GTTTCATATCCT TTAATCCCAA	6-10-4 MOE	N/A	N/A	32940	32959	$\text{G}_{\text{es}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{d}}$ $\text{sT}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{es}}\text{A}_{\text{e}}$	123

10

20

30

40

50

【表 1 - 8】

1287092	TGGCACATTTT TTATAGAGT	6-10-4 MOE	N/A	N/A	37153	37172	$T_{es}G_{co}G_{co}{}^mC_{co}A_{co}{}^mC_{co}A_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{co}A_{es}G_{es}T_c$	60
1287093	GGCACATTTT TATAGAGTT	6-10-4 MOE	N/A	N/A	37152	37171	$G_{es}G_{co}{}^mC_{co}A_{co}{}^mC_{co}A_{co}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}A_{co}G_{es}T_{es}T_c$	44
1287094	GCACACTTTCC TCCTCAATC	6-10-4 MOE	N/A	N/A	34014	34033	$G_{es}{}^mC_{co}A_{co}{}^mC_{co}A_{co}{}^mC_{co}T_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}$ ${}^mC_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}A_{co}A_{es}T_{es}{}^mC_e$	124
1287095	GCATATTGGTT TTCTCATTT	6-10-4 MOE	3074	3093	47600	47619	$G_{es}{}^mC_{co}A_{co}T_{co}A_{co}T_{co}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}T$ $_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}A_{co}T_{es}T_{es}T_c$	50
1287096	GCACCATATA TATCTCAGAA	6-10-4 MOE	N/A	N/A	6597	6616	$G_{es}{}^mC_{co}A_{co}{}^mC_{co}{}^mC_{co}A_{co}T_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}T$ $_{ds}A_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}A_{co}G_{es}A_{es}A_e$	61
1287098	GTTAATACTTT TTCCAGCCT	6-10-4 MOE	N/A	N/A	19455	19474	$G_{es}T_{co}T_{co}A_{co}A_{co}T_{co}A_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T$ $_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}G_{co}{}^mC_{es}{}^mC_{es}T_c$	62
1287099	CAGCACCATA TATATCTCAG	6-10-4 MOE	N/A	N/A	6599	6618	${}^mC_{es}A_{co}G_{co}{}^mC_{co}A_{co}{}^mC_{co}{}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $T_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}T_{co}{}^mC_{es}A_{es}G_e$	125
1287100	ATGTTTCATATC CTTTAACCC	6-10-4 MOE	N/A	N/A	32942	32961	$A_{es}T_{co}G_{co}T_{co}T_{co}{}^mC_{co}A_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}$ ${}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}A_{co}{}^mC_{es}{}^mC_{es}{}^mC_e$	46
1287101	GGTCAGTTTCC TAATTTTAA	6-10-4 MOE	N/A	N/A	17180	17199	$G_{es}G_{co}T_{co}{}^mC_{co}A_{co}G_{co}T_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}{}^mC$ $_{ds}T_{ds}A_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{co}T_{es}A_{es}A_e$	126
1287102	TAATACTTTTT CCAGCCTTC	6-10-4 MOE	N/A	N/A	19453	19472	$T_{es}A_{co}A_{co}T_{co}A_{co}{}^mC_{co}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^m$ $C_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}G_{ds}{}^mC_{ds}{}^mC_{co}T_{es}T_{es}{}^mC_e$	59
1287103	TGCTCATTTAT TCTCAAGTA	6-10-4 MOE	1864	1883	46390	46409	$T_{es}G_{co}{}^mC_{co}T_{co}{}^mC_{co}A_{co}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}A_{co}G_{es}T_{es}A_e$	32
1287104	GCACATTTTTT ATAGAGTTC	6-10-4 MOE	N/A	N/A	37151	37170	$G_{es}{}^mC_{co}A_{co}{}^mC_{co}A_{co}T_{co}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $A_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}A_{ds}G_{co}T_{es}T_{es}{}^mC_e$	17
1287569	AATGCTCATTT ATTCTCAAG	5-10-5 MOE	1866	1885	46392	46411	$A_{es}A_{co}T_{co}G_{co}{}^mC_{es}T_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $A_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}T_{co}{}^mC_{co}A_{es}A_{es}G_e$	127
1287570	ATGCTCATTTA TTCTCAAGT	5-10-5 MOE	1865	1884	46391	46410	$A_{es}T_{co}G_{co}{}^mC_{co}T_{es}{}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $T_{ds}T_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}{}^mC_{co}A_{co}A_{es}G_{es}T_c$	128
1287612	TGGAACCTACC TTGCATACTT	5-10-5 MOE	834	853	N/A	N/A	$T_{es}G_{co}G_{co}A_{co}A_{es}{}^mC_{ds}T_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}{}^mC_{ds}T$ $_{ds}T_{ds}G_{ds}{}^mC_{ds}A_{ds}T_{co}A_{co}{}^mC_{es}T_{es}T_c$	129
1287613	ACTACCTTGCA TACTTAGCT	5-10-5 MOE	830	849	N/A	N/A	$A_{es}{}^mC_{co}T_{co}A_{co}{}^mC_{es}{}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}{}^mC_{ds}$ $A_{ds}T_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}T_{co}A_{co}G_{es}{}^mC_{es}T_c$	130
1287614	AGTGCTATAA TTCTTGCTTC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	43655	43674	$A_{es}G_{co}T_{co}G_{co}{}^mC_{es}T_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}A_{ds}T_{ds}T$ $_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{co}{}^mC_{co}T_{es}T_{es}{}^mC_e$	131

10

20

30

40

50

【表 1 - 9】

1287615	GTGCTATAATT CTTGCTTCA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	43654	43673	$G_{es}T_{co}G_{co}^mC_{co}T_{es}A_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}^m$ $C_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}^mC_{co}T_{co}T_{es}^mC_{es}A_e$	132
1287617	GCTATAATTCT TGCTTCAAC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	43652	43671	$G_{es}^mC_{co}T_{co}A_{co}T_{es}A_{ds}T_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}G_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{co}^mC_{co}A_{es}A_{es}^mC_e$	133
1287618	TAATTCTTGCT TCAACCATC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	43648	43667	$T_{es}A_{co}A_{co}T_{co}T_{es}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}^mC_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}^mC_{ds}A_{ds}A_{ds}^mC_{co}^mC_{co}A_{es}T_{es}^mC_e$	134
1287619	AATTCTTGCTT CAACCATCA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	43647	43666	$A_{es}A_{co}T_{co}T_{co}^mC_{ds}T_{ds}G_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $^mC_{ds}A_{ds}A_{ds}^mC_{ds}^mC_{co}A_{co}T_{es}^mC_{es}A_e$	135
1287620	ATTCTTGCTTC AACCATCAT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	43646	43665	$A_{es}T_{co}T_{co}^mC_{co}T_{es}T_{ds}G_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}^mC_{ds}$ $A_{ds}A_{ds}^mC_{ds}^mC_{ds}A_{co}T_{co}^mC_{es}A_{es}T_e$	136
1287621	GCCATTAATCT ATACTGAAT	6-10-4 MOE	N/A	N/A	30607	30626	$G_{es}^mC_{co}^mC_{co}A_{co}T_{co}T_{co}A_{ds}A_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}$ $A_{ds}T_{ds}A_{ds}^mC_{ds}T_{ds}G_{co}A_{es}A_{es}T_e$	137
1304855	TCAAGTATTTT TCATTTTCC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	39752	39771	$T_{es}^mC_{co}A_{co}A_{co}G_{es}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{co}T_{co}T_{es}^mC_{es}^mC_e$	141
1304856	GCTGAAGACA TCTCTTCCTT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	59623	59642	$G_{es}^mC_{co}T_{co}G_{co}A_{es}A_{ds}G_{ds}A_{ds}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $^mC_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{co}^mC_{co}^mC_{es}T_{es}T_e$	142
1304857	TCTTCATTA GCCATACCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	40090	40109	$T_{es}^mC_{co}T_{co}T_{co}^mC_{es}A_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}A_{ds}A_{ds}$ $G_{ds}^mC_{ds}^mC_{ds}A_{ds}T_{co}A_{co}^mC_{es}^mC_{es}T_e$	143
1304858	TTCTTTATATA TTCTGCTTA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	39897	39916	$T_{es}T_{co}^mC_{co}T_{co}T_{es}T_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}G_{co}^mC_{co}T_{es}T_{es}A_e$	144
1304859	TCTTTTCAAA CCTTCACCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	39955	39974	$T_{es}^mC_{co}T_{co}T_{co}T_{es}T_{ds}^mC_{ds}A_{ds}A_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $^mC_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}^mC_{co}A_{co}^mC_{es}^mC_{es}T_e$	145
1304860	TCAGTTTATT TCTTCATTA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	40101	40120	$T_{es}^mC_{co}A_{co}G_{co}T_{es}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}^mC_{co}A_{co}T_{es}T_{es}A_e$	146
1304861	TGTACACTTTT ACATTCCCA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	40173	40192	$T_{es}G_{co}T_{co}A_{co}^mC_{es}A_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $A_{ds}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{co}^mC_{co}^mC_{es}^mC_{es}A_e$	147
1304862	CTGTACACTTT TACATTCCC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	40174	40193	$^mC_{es}T_{co}G_{co}T_{co}A_{es}^mC_{ds}A_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}A_{ds}^mC_{ds}A_{ds}T_{co}T_{co}^mC_{es}^mC_{es}^mC_e$	148
1304863	CCATGACTTCT TCCTCAATT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	42638	42657	$^mC_{es}^mC_{co}A_{co}T_{co}G_{es}A_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}^mC_{ds}$ $T_{ds}T_{ds}^mC_{ds}^mC_{ds}T_{ds}^mC_{co}A_{co}A_{es}T_{es}T_e$	149
1304864	CCTCAATTTT TTCAGCCCC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	42626	42645	$^mC_{es}^mC_{co}T_{co}^mC_{co}A_{es}A_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}T_{ds}^mC_{ds}A_{ds}G_{co}^mC_{co}^mC_{es}^mC_{es}^mC_e$	150
1304865	GTACATTA TCCATGAAA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	27764	27783	$G_{es}T_{co}A_{co}^mC_{co}A_{es}T_{ds}T_{ds}A_{ds}A_{ds}^mC_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}^mC_{ds}^mC_{ds}A_{ds}T_{co}G_{co}A_{es}A_{es}A_e$	151

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 0】

1304866	CATATTTTACT CTTTTATT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	43580	43599	${}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ ${}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{es}}\text{T}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{c}}$	152
1304867	GTCACCATACT TAATACCAT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	9019	9038	$\text{G}_{\text{es}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{es}}\text{T}_{\text{c}}$	153
1304868	TGTACAATTTT CCATTACTA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	58670	58689	$\text{T}_{\text{cs}}\text{G}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m$ $\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{A}_{\text{c}}$	154
1304869	CCTTATATATT TCTACTACC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	10496	10515	${}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{es}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{c}}$	155
1304870	CAGTACCTAA AATAAGTTCA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	11923	11942	${}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{co}}\text{G}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}$ $\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{cs}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{c}}$	156
1304871	TTGTACAATTT TCCATTACT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	58671	58690	$\text{T}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{co}}\text{G}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ ${}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{c}}$	157
1304872	GCAATGAATA CAACACACAT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	27716	27735	$\text{G}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{cs}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}$ $\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{es}}\text{T}_{\text{c}}$	158
1304873	CGTCTAACATT CCTGAGCCA	5-10-5 MOE	720	739	27577	27596	${}^m\text{C}_{\text{es}}\text{G}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{cs}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{d}}$ ${}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{co}}\text{G}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{c}}$	159
1304874	CCATCCTTTTC TAAATGGTA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	13682	13701	${}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m$ $\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{co}}\text{G}_{\text{co}}\text{G}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{es}}\text{A}_{\text{c}}$	160
1304875	TCTTTTATCAT TTCTTTTCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	43526	43545	$\text{T}_{\text{cs}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{c}}$	161
1304876	AAATTACTTCT TTTATCATT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	43534	43553	$\text{A}_{\text{es}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{cs}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{c}}$	162
1304877	TTAATTTTCCC TTCACCTCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	43450	43469	$\text{T}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{c}}$	163
1304878	CCTGATGTTCC AAAATTACT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	43546	43565	${}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{G}_{\text{co}}\text{A}_{\text{es}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m$ $\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{c}}$	164
1295851	AATGCATATT GGTTTTCTCA	5-10-5 MOE	3077	3096	47603	47622	$\text{A}_{\text{es}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{G}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}$ $\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{cs}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{c}}$	165
1295852	GTATAGAGTTT ACCTGCAGC	5-10-5 MOE	4142	4161	48668	48687	$\text{G}_{\text{es}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{d}}$ ${}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{es}}\text{G}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{c}}$	64
1295853	CTATAATTCTT GCTTCAACC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	43651	43670	${}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{G}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{c}}$	166
1295854	TTTCATGTTCC AGATCACCA	5-10-5 MOE	2238	2257	46764	46783	$\text{T}_{\text{cs}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{d}}$ ${}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{c}}$	167

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 1】

1295855	CCAATATTTAT AGGTGCTGC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	30449	30468	${}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{es}}\text{G}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{e}}$	119
1295856	CAATATTTATA GGTGCTGCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	30448	30467	${}^m\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}$ $\text{G}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{G}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$	120
1295857	GCCAAAATAC TAACATCAGT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32676	32695	$\text{G}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{e}}$ $\text{dsA}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{es}}\text{G}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$	63
1295858	GCCAATATTTA TAGGTGCTG	5-10-5 MOE	N/A	N/A	30450	30469	$\text{G}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{co}}\text{G}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{G}_{\text{e}}$	118
1295859	GCACCATATA TATCTCAGAA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	6597	6616	$\text{G}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{dsA}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{G}_{\text{es}}\text{A}_{\text{es}}\text{A}_{\text{e}}$	61
1295860	AGCCAATATTT ATAGGTGCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	30451	30470	$\text{A}_{\text{es}}\text{G}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{G}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$	117
1295861	GTTAATACTTT TTCCAGCCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	19455	19474	$\text{G}_{\text{es}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{dsT}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{co}}\text{G}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$	62
1295862	GTGCTTTTCAT ACCAGGTCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	15665	15684	$\text{G}_{\text{es}}\text{T}_{\text{co}}\text{G}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{co}}\text{G}_{\text{co}}\text{T}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$	71
1295863	TGCTTTTCATA CCAGGTCTC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	15664	15683	$\text{T}_{\text{es}}\text{G}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}$ ${}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{e}}$	72
1295864	TGTTAATACTT TTCCAGCC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	19456	19475	$\text{T}_{\text{es}}\text{G}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{dsT}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{G}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{e}}$	75
1295865	TAATACTTTTT CCAGCCTTC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	19453	19472	$\text{T}_{\text{es}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}$ $\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{e}}$	59
1295866	GCCATTAATCT ATACTGAAT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	30607	30626	$\text{G}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{e}}$ $\text{dsA}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{co}}\text{G}_{\text{co}}\text{A}_{\text{es}}\text{A}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$	137
1295867	GGCACATTTTT TATAGAGTT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	37152	37171	$\text{G}_{\text{es}}\text{G}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{G}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$	44
1295868	GTTCCAGATC ACCATCTTTG	5-10-5 MOE	2232	2251	46758	46777	$\text{G}_{\text{es}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{e}}$ $\text{ds}{}^m\text{C}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{G}_{\text{e}}$	168
1295869	ACCCAATAAT CTGACATCCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32926	32945	$\text{A}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}$ $\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{es}}{}^m\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$	42
1295870	TGGCACATTTT TTATAGAGT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	37153	37172	$\text{T}_{\text{es}}\text{G}_{\text{co}}\text{G}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{co}}\text{G}_{\text{co}}\text{A}_{\text{es}}\text{G}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$	60
1295871	TGCTCATTTAT TCTCAAGTA	5-10-5 MOE	1864	1883	46390	46409	$\text{T}_{\text{es}}\text{G}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{T}_{\text{co}}{}^m\text{C}_{\text{co}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}{}^m\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{co}}\text{A}_{\text{co}}\text{G}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{A}_{\text{e}}$	32

10

20

30

40

50

【表 1-12】

1295872	GCTCATTTATT CTCAAGTAC	5-10-5 MOE	1863	1882	46389	46408	$G_{es}^{mC_{co}T_{co}{}^{mC_{co}A_{co}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}}$ ${}^{mC_{ds}T_{ds}{}^{mC_{ds}A_{ds}A_{co}G_{co}T_{es}A_{es}{}^{mC_e}}$	58
1295873	TGGCACATTTT TTATAGAGT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	37153	37172	$T_{es}G_{es}G_{co}{}^{mC_{co}A_{cs}{}^{mC_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}}$ $T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{co}G_{co}A_{es}G_{es}T_e$	60
1295874	AGCCAATATTT ATAGGTGCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	30451	30470	$A_{es}G_{es}{}^{mC_{co}{}^{mC_{co}A_{es}A_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}}$ $A_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{co}T_{co}G_{es}{}^{mC_{es}{}^{mC_e}T_e}$	117
1295875	GCACCATATA TATCTCAGAA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	6597	6616	$G_{es}{}^{mC_{es}A_{co}{}^{mC_{co}{}^{mC_{es}A_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}}$ ${}^{mC_{ds}T_{ds}{}^{mC_{ds}T_{ds}{}^{mC_{co}A_{co}G_{es}A_{es}A_e}}$	61
1295876	TGTTAATACTT TTCCAGCC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	19456	19475	$T_{es}G_{es}T_{co}T_{co}A_{es}A_{ds}T_{ds}A_{ds}{}^{mC_{ds}T_{ds}T_{ds}T_d}$ ${}_sT_{ds}T_{ds}{}^{mC_{ds}{}^{mC_{co}A_{co}G_{es}{}^{mC_{es}{}^{mC_e}}}}$	75
1295877	GTTAATACTTT TTCCAGCCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	19455	19474	$G_{es}T_{es}T_{co}A_{co}A_{es}T_{ds}A_{ds}{}^{mC_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_d}$ ${}_sT_{ds}{}^{mC_{ds}{}^{mC_{ds}A_{co}G_{co}{}^{mC_{es}{}^{mC_e}T_e}}}$	62
1295878	TGCTCATTTAT TCTCAAGTA	5-10-5 MOE	1864	1883	46390	46409	$T_{es}G_{es}{}^{mC_{co}T_{co}{}^{mC_{es}A_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}}$ $T_{ds}{}^{mC_{ds}T_{ds}{}^{mC_{ds}A_{co}A_{co}G_{es}T_{es}A_e}}$	32
1295879	TAATACTTTTT CCAGCCTTC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	19453	19472	$T_{es}A_{es}A_{co}T_{co}A_{es}{}^{mC_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^{mC_{ds}{}^{mC_{ds}A_{ds}G_{ds}{}^{mC_{co}{}^{mC_{co}T_{es}T_{es}{}^{mC_e}}}}}$	59
1295880	ACCCAATAAT CTGACATCCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	32926	32945	$A_{es}{}^{mC_{es}{}^{mC_{co}{}^{mC_{co}A_{es}A_{ds}T_{ds}A_{ds}A_{ds}T_{ds}{}^{mC_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{mC_{ds}A_{co}T_{co}{}^{mC_{es}{}^{mC_{es}T_e}}}}}$	42
1295881	GCCATTAATCT ATACTGAAT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	30607	30626	$G_{es}{}^{mC_{es}{}^{mC_{co}A_{co}T_{es}T_{ds}A_{ds}A_{ds}T_{ds}{}^{mC_{ds}T_d}$ ${}_sA_{ds}T_{ds}A_{ds}{}^{mC_{ds}T_{co}G_{co}A_{es}A_{es}T_e}}$	137
1295882	GCTCATTTATT CTCAAGTAC	5-10-5 MOE	1863	1882	46389	46408	$G_{es}{}^{mC_{es}T_{co}{}^{mC_{co}A_{es}T_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^{mC_{ds}T_{ds}{}^{mC_{ds}A_{ds}A_{co}G_{co}T_{es}A_{es}{}^{mC_e}}}}$	58
1295883	GGCACATTTT TATAGAGTT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	37152	37171	$G_{es}G_{es}{}^{mC_{co}A_{co}{}^{mC_{es}A_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}}$ $T_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{co}A_{co}G_{es}T_{es}T_e$	44
1299093	ACCATCTTTGA CAAGCTATA	5-10-5 MOE	2222	2241	46748	46767	$A_{es}{}^{mC_{co}{}^{mC_{co}A_{co}T_{co}{}^{mC_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{mC_{ds}A_{ds}A_{ds}G_{ds}{}^{mC_{co}T_{co}A_{es}T_{es}A_e}}}}$	101
1299091	CCCCAACTTT CAAGGCATT	5-10-5 MOE	313	332	16179	16198	${}^{mC_{es}{}^{mC_{co}{}^{mC_{co}{}^{mC_{co}A_{co}A_{ds}A_{ds}{}^{mC_{ds}T_{ds}T_d}$ ${}_sT_{ds}{}^{mC_{ds}A_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{co}{}^{mC_{co}A_{es}T_{es}T_e}}}}$	171
1299092	GTTCAC TTTGC CATAATCAA	5-10-5 MOE	N/A	N/A	8455	8474	$G_{es}T_{co}T_{co}{}^{mC_{co}A_{co}{}^{mC_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}{}^{mC_d}$ ${}_s{}^{mC_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}A_{co}T_{co}{}^{mC_{es}A_{es}A_e}}}$	172

10

20

30

40

50

【 0 3 4 4 】

実施例２：ヒト A T X N ３ RNA に対して相補的なギャップ内に 2' - O - メチルヌクレオシド及び混合型ヌクレオシド間結合を有する改変ギャップマーの設計

ヒト A T X N ３核酸に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドを設計した。以下の表中の修飾オリゴヌクレオチドは、5-10-5 改変ギャップマーである。これらの改変ギャップマーは、2'-デオキシヌクレオシドを含み、かつ 2'-MOE ヌクレオシドを含む 5'末端及び 3'末端の両方のウィングセグメントに隣接した中央ギャップセグメントを有する。ギャップは、１つの 2'-O-メチルヌクレオシドを含む。各ギャップマー全体にわたるヌクレオシド間結合は、混合型ホスホジエステルヌクレオシド間結合及びホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。ヌクレオシド間結合モチーフは、5'から 3'に順に、**S O O O S S S S S S S S S S S S O O S S** 及び **S O S S S S S S S S S S S S S S S S S S S S** を含む。**配列及び化学表記法の列は、5'-メチルシトシン、糖化学、及びヌクレオシド**

間結合化学を含む配列を明記し、ここで、下付き文字「d」は、2'-β-D-デオキシリボシル糖部分を表し、下付き文字「e」は、2'-MOE糖部分を表し、下付き文字「y」は、2'-O-メチル糖部分を表し、下付き文字「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合を表し、下付き文字「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表し、シトシン残基の前の上付き文字「m」は、5-メチルシトシンを示す。「開始部位」は、ギャップマーがヒト核酸配列において相補的である最も5'側のヌクレオシドを示す。「終止部位」は、ギャップマーがヒト核酸配列において相補的である最も3'側のヌクレオシドを示す。

【0345】

以下の表に列記される修飾オリゴヌクレオチドは各々、示されるように、ヒトATXN3核酸配列の配列番号1（GENBANK受託番号NM_004993.5）、配列番号2（ヌクレオチド92, 056, 001~92, 110, 000から切断されたGENBANK受託番号NC_000014.9の相補体）、または配列番号3（ヌクレオチド92038001~92110000から切断されたGENBANK受託番号NC_000014.9の相補体）に対して相補的である。「N/A」は、修飾オリゴヌクレオチドがその特定の核酸に対して100%相補的ではないことを示す。

表2

ヒトATXN3 RNAに対して相補的なギャップ内に2'-O-メチルヌクレオシド及び混合型ヌクレオシド間結合を有する改変ギャップマー

10

20

30

40

50

【表 2】

化合物 番号	配列 (5' から 3' に)	ギャッ プマー モチーフ	配列 番号 1 開始 部位	配列 番号 1 終止 部位	配列 番号 2 開始 部位	配列 番号 2 終止 部位	化学表記法 (5' から 3' に)	配列 番号
1288220	TAATACUTTTTC CAGCCTTC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	19453	19472	$T_{es}A_{co}A_{co}T_{co}A_{es}^mC_{ds}U_{ys}T_{ds}T_{ds}T_{ds}^m$ $C_{ds}^mC_{ds}A_{ds}G_{ds}^mC_{co}^mC_{co}T_{es}T_{es}^mC_c$	138
1288221	AGTGCTUTTCA TACCAGGTC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	15666	15685	$A_{es}G_{co}T_{co}G_{co}^mC_{es}T_{ds}U_{ys}T_{ds}T_{ds}^mC_{ds}A_{ds}$ $T_{ds}A_{ds}^mC_{ds}^mC_{ds}A_{co}G_{co}G_{es}T_{es}^mC_c$	139
1288222	GGTTTTCTCATT TTTATATT	5-10-5 MOE	3067	3084	47593	47612	$G_{es}G_{co}T_{co}T_{co}T_{es}T_{ds}C_{ys}T_{ds}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}T_d$ $sT_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{co}T_{co}A_{es}T_{es}T_c$	37
1288223	TGGCACATTTTT TATAGAGT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	37153	37172	$T_{es}G_{co}G_{co}^mC_{co}A_{es}C_{ys}A_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T$ $dsT_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{co}G_{co}A_{es}G_{es}T_c$	60
1288287	TAATACTTUTTC CAGCCTTC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	19453	19472	$T_{es}A_{co}A_{co}T_{co}A_{es}^mC_{ds}T_{ds}U_{ys}T_{ds}T_{ds}^m$ $C_{ds}^mC_{ds}A_{ds}G_{ds}^mC_{co}^mC_{co}T_{es}T_{es}^mC_c$	140
1288288	AGTGCTTTTCAT ACCAGGTC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	15666	15685	$A_{es}G_{co}T_{co}G_{co}^mC_{es}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}C_{ys}A_{ds}T$ $dsA_{ds}^mC_{ds}^mC_{ds}A_{co}G_{co}G_{es}T_{es}^mC_c$	122
1288289	TGGCACATTTTT TATAGAGT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	37153	37172	$T_{es}G_{co}G_{co}^mC_{co}A_{es}^mC_{ds}A_{ys}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{co}G_{co}A_{es}G_{es}T_c$	60
1299087	GTTAATACTTTT TCCAGCCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	19455	19474	$G_{es}T_{co}T_{es}A_{es}A_{es}T_{ds}A_{ys}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_d$ $sT_{ds}^mC_{ds}^mC_{ds}A_{es}G_{co}^mC_{es}^mC_{es}T_c$	62
1299090	TAATACUTTTTC CAGCCTTC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	19453	19472	$T_{es}A_{co}A_{es}T_{es}A_{es}^mC_{ds}U_{ys}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}^m$ $C_{ds}^mC_{ds}A_{ds}G_{ds}^mC_{es}^mC_{co}T_{es}T_{es}^mC_c$	138
1299089	TGCTTTUCATA CCAGGTCTC	5-10-5 MOE	N/A	N/A	15664	15683	$T_{es}G_{co}^mC_{co}T_{co}T_{es}T_{ds}U_{ys}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $^mC_{ds}^mC_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{co}T_{co}^mC_{es}T_{es}^mC_c$	169
1299088	GTGCTTUTCAT ACCAGGTCT	5-10-5 MOE	N/A	N/A	15665	15684	$G_{es}T_{co}G_{co}^mC_{co}T_{es}T_{ds}U_{ys}T_{ds}^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $A_{ds}^mC_{ds}^mC_{ds}A_{ds}G_{co}G_{co}T_{es}^mC_{es}T_c$	170

10

20

30

【0346】

実施例 3：トランスジェニックマウスにおけるヒト ATXN3 RNA に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドの活性

修飾オリゴヌクレオチドを、拡大した CAG リピートを有する全長ヒト ATXN3 疾患遺伝子 (CAG84、Q84) を含む ATXN3 YAC トランスジェニックマウスモデルで試験した。半接合性 SCA3-Q84.2 マウスを wt/Q84 と指定し、Costa Mdo C., et al., Toward RNAi Therapy for the Polyglutamine Disease Machado-Joseph Disease. Mol Ther, 2013. 21 (10): 1898-908 に記載されている。

40

【0347】

ATXN3 トランスジェニックマウスを各々 2 匹または 3 匹のマウス群に分けた。各群のマウスに 300 μg の用量でオリゴヌクレオチドの単回 ICV ボーラスを与え、2 週間後に 殺した。2 匹または 3 匹のマウス群に PBS を注射して対照群とし、これをオリゴヌクレオチド処理群と比較した。2 週間後、マウスを 殺し、RNA を中枢神経系の様々な領域から抽出した。ATXN3 RNA レベルを、ヒトプライマープロベセット RTS 43981 (本明細書で配列番号 4 と指定されるフォワード配列 TGACACAGACA

50

T C A G G T A C A A A T C、本明細書で配列番号 5 と指定されるリバース配列 T G C T G C T G T T G C T G C T T、本明細書で配列番号 6 と指定されるプローブ配列 A G C T T C G G A A G A G A C G A G A A G C C T A) を使用して、定量的リアルタイム R T P C R によって測定した。A T X N 3 R N A の発現レベルを、マウスプライマープローブセット m _ _ c y c l o 2 4 ((本明細書で配列番号 7 と指定されるフォワード配列 T C G C C G C T T G C T G C A、本明細書で配列番号 8 と指定されるリバース配列 A T C G G C C G T G A T G T C G A、本明細書で配列番号 9 と指定されるプローブ配列 C C A T G G T C A A C C C C A C C G T G T T C) を使用して、ハウスキーピング遺伝子シクロフィリン-A R N A の発現レベルに正規化し、これをビヒクル対照 (P B S) 処理動物群の平均にさらに正規化した。発現データをビヒクル処理対照群平均パーセントとして報告する。比較化合物番号 6 5 0 5 2 8 もこのアッセイで試験した。以下の表に示されるように、ヒト A T X N 3 R N A は様々な組織で減少した。表 3 ~ 1 5 は各々、異なる実験を表す。

10

表 3

トランスジェニックマウスにおけるヒト A T X N 3 R N A の減少

【表 3】

化合物番号	h A T X N 3 発現 (対照%)			
	脊髄	皮質	小脳	脳幹
PBS	100	100	100	100
650528	29	47	80	37
1248258	71	85	104	87
1248259	64	67	79	60
1248261	74	98	97	85
1248262	73	93	102	86
1248264	73	90	99	92
1248265	85	93	105	102
1248266	29	50	66	30
1248267	80	108	99	84
1248268	82	92	97	90
1248269	73	101	89	84
1248271	66	82	83	76
1248273	62	66	99	63
1248275	59	72	90	70
1248276	98	85	99	97
1248277	72	78	99	79
1248278	49	54	93	47

20

30

40

表 4

トランスジェニックマウスにおけるヒト A T X N 3 R N A の減少

50

【表 4】

化合物番号	h A T X N 3 発現 (対照%)			
	脊髄	皮質	小脳	脳幹
PBS	100	100	100	100
650528	30	42	67	34
1248257	45	48	64	46
1248260	42	41	66	44
1248263	29	33	52	28
1248270	59	61	68	47
1248272	90	93	86	90
1248274	28	29	60	29
1248279	69	86	74	60
1248280	66	83	72	57
1248281	60	53	67	43
1248282	84	76	87	67
1248283	25	20	54	23
1248284	29	32	73	35
1248285	65	66	74	65
1248286	65	75	89	76
1248287	46	44	63	43
1248288	44	29	67	40
1248289	58	50	79	52
1248290	23	34	60	20
1248291	52	72	84	68
1248292	33	31	70	27
1248293	75	83	90	79
1248297	62	66	65	62
1248298	80	84	79	74

10

20

30

表 5

トランスジェニックマウスにおけるヒト A T X N 3 R N A の減少

40

50

【表 5】

化合物番号	h A T X N 3 発現 (対照%)			
	脊髄	皮質	小脳	脳幹
PBS	100	100	100	100
650528	39	61	81	38
1247564	27	36	58	29
1247565	28	32	57	28
1247566	23	33	53	26
1247567	59	68	79	62
1247568	30	27	51	29
1248294	62	93	86	79
1248295	58	84	83	55
1248296	66	73	81	70
1248299	84	93	94	84
1248300	70	86	82	70

10

表 6

トランスジェニックマウスにおけるヒト A T X N 3 R N A の減少

【表 6】

20

化合物番号	h A T X N 3 発現 (対照%)			
	脊髄	皮質	小脳	脳幹
PBS	100	100	100	100
650528	36	47	81	44
1269632	16	11	64	18
1269633	25	14	62	28
1269634	26	30	74	26
1269635	26	21	59	25
1269636	21	16	59	22
1269637	27	34	68	32
1269638	49	27	79	51
1269639	33	35	68	35
1269640	42	34	69	41

30

表 7

トランスジェニックマウスにおけるヒト A T X N 3 R N A の減少

40

50

【表 7】

化合物番号	h A T X N 3 発現 (対照%)			
	脊髄	皮質	小脳	脳幹
PBS	100	100	100	100
650528	28	43	76	32
1269481	61	75	84	62
1269482	43	71	80	52
1269483	37	63	87	46
1269484	44	69	83	57
1269485	18	14	54	14
1269486	24	26	62	23
1269487	67	61	95	60
1269488	65	75	109	60
1269495	26	21	57	26
1269496	47	38	82	44
1269633	19	14	59	23
1269636	22	15	60	20
1269640	37	34	73	41

10

20

表 8

トランスジェニックマウスにおけるヒト A T X N 3 R N A の減少

【表 8】

化合物番号	h A T X N 3 発現 (対照%)			
	脊髄	皮質	小脳	脳幹
PBS	100	100	100	100
650528	40	33	78	44
1269450	68	62	89	70
1269451	70	74	101	85
1269460	51	56	106	63
1269461	67	81	125	77
1269462	59	61	98	67
1269463	61	65	100	72
1269464	76	79	117	95
1269477	71	60	75	66
1269478	43	52	91	47
1269479	51	47	83	58
1269480	46	49	78	54
1269489	53	55	82	66
1269490	53	55	96	63
1269491	50	58	91	62
1269492	47	53	83	57
1269493	42	45	95	43
1269494	42	35	79	42
1269635	26	18	58	28
1269637	25	24	81	30

30

40

表 9

50

トランスジェニックマウスにおけるヒト A T X N 3 R N A の減少
【表 9】

化合物番号	h A T X N 3 発現 (対照%)			
	脊髄	皮質	小脳	脳幹
PBS	100	100	100	100
650528	28	49	68	40
1269442	41	28	63	46
1269443	58	48	66	51
1269444	51	43	65	49
1269445	44	49	58	57
1269446	64	59	72	70
1269447	56	48	77	62
1269448	40	35	60	46
1269449	38	28	50	43
1269465	106	87	54	85
1269466	56	39	61	54
1269467	61	41	57	53
1269468	41	28	59	36
1269469	44	32	54	40
1269470	44	42	66	49
1269471	57	46	53	51
1269472	90	60	65	69
1269473	79	64	66	73
1269474	63	60	71	65
1269475	101	81	71	77
1269476	131	74	64	95

10

20

表 1 0

トランスジェニックマウスにおけるヒト A T X N 3 R N A の減少
【表 1 0】

30

化合物番号	h A T X N 3 発現 (対照%)			
	脊髄	皮質	小脳	脳幹
PBS	100	100	100	100
650528	38	39	80	31
1269452	85	84	94	69
1269453	64	74	87	50
1269454	43	48	75	33
1269455	18	20	58	14
1269456	17	15	55	14
1269457	30	27	70	27
1269458	40	31	77	29
1269459	58	61	95	47

40

表 1 1

トランスジェニックマウスにおけるヒト A T X N 3 R N A の減少

50

【表 1 1】

化合物番号	h A T X N 3 発現 (対照%)			
	脊髄	皮質	小脳	脳幹
PBS	100	100	100	100
650528	49	49	56	45
1287089	27	24	38	14
1287090	12	12	32	12
1287091	24	17	39	19
1287092	26	36	44	19
1287093	37	30	53	14
1287094	32	41	47	32
1287095	24	17	27	15
1287096	31	34	31	19
1287098	38	35	67	29
1287099	32	38	34	21
1287100	49	28	49	17
1287101	28	46	43	29
1287102	50	61	72	59
1287103	22	19	37	21
1287104	40	33	57	22
1287569	69	68	50	46
1287570	26	34	42	23
1287612	34	62	48	40
1287613	65	63	48	48
1287614	37	55	54	31
1287615	42	45	48	29
1287617	48	26	39	18
1287618	41	55	53	38
1287619	42	42	61	50
1287620	58	76	64	55
1287621	33	27	51	29

10

20

30

表 1 2

トランスジェニックマウスにおけるヒト A T X N 3 R N A の減少

【表 1 2】

化合物番号	h A T X N 3 発現 (対照%)			
	脊髄	皮質	小脳	脳幹
PBS	100	100	100	100
1288220	38	21	62	41
1288221	34	28	64	42
1288222	63	61	90	83
1288223	35	31	75	39
1288287	48	20	63	46
1288288	23	14	55	26
1288289	46	35	82	47

40

50

表 1 3

トランスジェニックマウスにおけるヒト A T X N 3 R N A の減少

【表 1 3】

化合物番号	h A T X N 3 発現 (対照%)			
	脊髄	皮質	小脳	脳幹
PBS	100	100	100	100
650528	70	43	84	41
1304855	80	58	81	53
1304856	104	102	99	98
1304857	105	61	83	64
1304858	82	59	86	65
1304859	94	64	88	77
1304860	98	82	95	75
1304861	42	27	61	38
1304862	22	17	39	21
1304863	66	46	81	52
1304864	49	45	70	44
1304865	108	94	106	80
1304866	127	106	118	105
1304867	72	72	107	59
1304868	127	98	122	99
1304869	96	65	113	75
1304870	117	93	118	95
1304871	106	107	120	100
1304872	115	109	107	103
1304873	53	42	85	47
1304874	89	103	105	94
1304875	75	66	94	72
1304876	129	114	107	107
1304877	90	84	94	84
1304878	86	87	97	80

表 1 4

トランスジェニックマウスにおけるヒト A T X N 3 R N A の減少

10

20

30

40

50

【表 1 4】

化合物番号	h A T X N 3 発現 (対照%)			
	脊髄	皮質	小脳	脳幹
PBS	100	100	100	100
650528	45	40	42	86
1295851	31	40	40	72
1295852	40	49	47	75
1295853	33	42	42	74
1295854	21	36	40	71
1295855	33	38	36	65
1295856	32	37	44	68
1295857	41	47	46	68
1295858	29	31	31	60
1295859	25	29	32	65
1295860	27	25	24	61
1295861	26	32	27	64
1295862	18	17	18	50
1295863	19	30	33	54
1295864	23	41	44	66
1295865	43	44	42	68
1295866	33	41	48	66
1295867	32	37	40	81
1295868	33	41	42	78
1295869	54	51	60	80
1295870	26	23	26	59
1295871	31	34	33	70
1295872	25	24	27	64
1295873	23	26	27	72
1295874	14	17	18	62
1295875	27	28	30	55
1295876	21	32	33	55
1295877	55	28	45	86
1295878	23	50	32	64
1295879	24	35	33	74
1295880	39	56	59	89
1295881	53	60	56	84
1295882	20	28	30	69
1295883	39	42	41	71

表 1 5

トランスジェニックマウスにおけるヒト A T X N 3 R N A の減少

10

20

30

40

50

【表 15】

化合物番号	h A T X N 3 発現 (対照%)			
	脊髄	皮質	小脳	脳幹
PBS	100	100	100	100
650528	41	44	82	45
1299087	37	22	68	35
1299088	30	28	64	29
1299089	46	44	74	43
1299090	31	20	63	33
1299091	55	53	75	57
1299092	43	40	76	49
1299093	52	51	81	59

10

【0348】

実施例 4：トランスジェニックマウスにおけるヒト A T X N 3 に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドの効力

修飾オリゴヌクレオチドを、拡大した C A G リピートを有する全長ヒト A T X N 3 疾患遺伝子 (C A G 8 4、Q 8 4) を含む A T X N 3 Y A C トランスジェニックマウスモデルで試験した。半接合性 S C A 3 - Q 8 4. 2 マウスを w t / Q 8 4 と指定し、C o s t a M d o C . , e t a l . , T o w a r d R N A i T h e r a p y f o r t h e P o l y g l u t a m i n e D i s e a s e M a c h a d o - J o s e p h D i s e a s e . M o l T h e r , 2 0 1 3 . 2 1 (1 0) : 1 8 9 8 - 9 0 8 に記載されている。

20

【0349】

処理

A T X N 3 トランスジェニックマウスを各々 4 匹のマウス群に分けた。各マウスに以下の表に示す用量で修飾オリゴヌクレオチドの単回 I C V ボーラスを投与した。4 匹のマウス群に陰性対照として P B S を投与した。

30

【0350】

R N A 分析

2 週間後、マウスを 殺し、R N A を、プライマープローブセット R T S 4 3 9 8 1 (本明細書の上に記載される) を使用して、A T X N 3 の R N A 発現のリアルタイム q P C R 分析のために、皮質脳組織、脳幹、及び脊髄から抽出した。A T X N 3 R N A の発現レベルを、マウスプライマープローブセット m _ c y c l o 2 4 (本明細書の上に記載される) を使用して、ハウスキーピング遺伝子シクロフィリン - A m R N A の発現レベルに正規化し、これをビヒクル対照処理動物群の平均にさらに正規化した。発現データをビヒクル対照処理動物群平均パーセント (対照%) として報告する。E D 5 0 を、内蔵型 G r a p h P a d の式「対数 (作動薬) 対応答 (l o g (a g o n i s t) v s . r e s p o n s e) - F i n d E C a n y t h i n g」を使用して、対数変換用量及び個々の動物の A T X N 3 R N A レベルから計算した。

40

【0351】

以下の表に示されるように、修飾オリゴヌクレオチドでの処理により、P B S 対照と比較して A T X N 3 R N A の用量応答性減少がもたらされた。表 1 6 ~ 1 8 は各々、異なる実験を表す。

表 1 6

トランスジェニックマウスにおけるヒト A T X N 3 R N A の減少

50

【表 1 6】

化合物番号	用量 (μ g)	脊髄		皮質		脳幹	
		hATXN3 発現 (対照%)	ED ₅₀ (μ g)	hATXN3 発現 (対照%)	ED ₅₀ (μ g)	hATXN3 発現 (対照%)	ED ₅₀ (μ g)
1248274	10	84	38.4	93	86.9	94	111.2
	30	63		82		71	
	100	36		48		51	
	300	25		27		51	
	700	22		22		37	

10

表 1 7

トランスジェニックマウスにおけるヒトATXN3 RNAの減少

【表 1 7】

化合物番号	用量 (μ g)	脊髄		皮質		脳幹	
		hATXN3 発現 (対照%)	ED ₅₀ (μ g)	hATXN3 3 発現 (対照%)	ED ₅₀ (μ g)	hATXN3 発 現 (対照%)	ED ₅₀ (μ g)
1269455	10	71	15.7	81	61.2	75	20.2
	30	39		83		48	
	100	19		38		25	
	300	15		19		17	
	700	14		11		15	
1287089	10	80	19.6	87	58.3	76	27.8
	30	41		64		53	
	100	24		48		31	
	300	18		19		22	
	700	14		12		19	
1287090	10	71	14.5	88	39.8	70	19.8
	30	33		63		50	
	100	21		32		31	
	300	14		15		18	
	700	10		10		15	
1287621	10	82	23.1	69	36.7	79	34.8
	30	45		64		61	
	100	31		42		40	
	300	19		21		22	
	700	15		15		18	

20

30

40

表 1 8

トランスジェニックマウスにおけるヒトATXN3 RNAの減少

50

【表 18】

化合物番号	用量 (μg)	脊髄		皮質		脳幹	
		hATXN3 発現 (対照%)	ED ₅₀ (μg)	hATXN3 発現 (対照%)	ED ₅₀ (μg)	hATXN3 発現 (対照%)	ED ₅₀ (μg)
1269635	10	72	32.1	77	56.8	69	33.4
	30	71		72		68	
	100	27		46		39	
	300	22		26		28	
	700	18		15		24	
1287091	10	52	10.4	79	57.4	61	18.2
	30	56		82		59	
	100	22		35		29	
	300	34		22		42	
	700	14		12		18	
1287095	10	69	14.5	84	28.9	71	21.2
	30	37		68		51	
	100	21		37		32	
	300	18		21		24	
	700	15		11		19	
1287103	10	80	30.2	88	72.2	71	23.5
	30	58		85		52	
	100	34		40		39	
	300	20		27		26	
	700	15 ^Δ		11 ^Δ		20 ^Δ	

^Δは、その群が4匹未満の動物を有したことを示す。

【0352】

実施例5：複数の用量のインビトロでのヒトATXN3に対する混合型ヌクレオシド間結合を有する5-10-5ギャップマーの影響

上の実施例から選択した修飾オリゴヌクレオチドを自由摂取によりA431細胞において様々な用量で試験した。以下の表に指定されるように、細胞を11,000細胞／ウェルの密度でプレーティングし、109.4nM、437.5nM、1,750.0nM、及び7,000.0nMの濃度の修飾オリゴヌクレオチドで処理した。およそ48時間の治療期間後、全RNAを細胞から単離し、ATXN3 RNAレベルをRT-qPCRによって測定した。ヒトプライマープローブセットRTS38920（本明細書で配列番号173と指定されるフォワード配列CTATCAGGACAGAGTTTCACATCC、本明細書で配列番号174と指定されるリバーズ配列GTTTCTAAAGACATGGTCACAGC、本明細書で配列番号175と指定されるプローブ配列AAAGGCCAGCCACCAAGTTTCAGG）を使用して、RNAレベルを測定した。比較化合物番号650528もこのアッセイで試験した。ATXN3 RNAレベルを、RiboGreen（登録商標）によって測定した全RNA含有量に従って調整した。結果を、未処理の対照細胞に対するATXN3 RNAレベルのパーセントとして以下の表に表す。IC₅₀を、Prism7.01ソフトウェアを使用した式「対数（阻害剤）対正規化応答－可変勾配（log（inhibitor）vs. normalized response-variable slope）」を使用して計算した。

表19

修飾オリゴヌクレオチドによるヒトATXN3 RNAの用量依存的減少

【表 19】

化合物番号	対照%				IC ₅₀ (μM)
	109.4 nM	437.5 nM	1750.0 nM	7000.0 nM	
650528	38	48	67	84	2.03
1269455	5	9	19	47	0.09
1269635	8	15	33	55	0.15
1287095	8	10	17	32	0.02
1287621	20	35	58	85	0.8

10

【0353】

実施例 6：野生型マウスにおけるヒト A T X N 3 に対して相補的な修飾オリゴヌクレオチドの耐容性

上記の修飾オリゴヌクレオチドを野生型雌 C 5 7 / B 1 6 マウスで試験して、オリゴヌクレオチドの耐容性を評価した。野生型雌 C 5 7 / B 1 6 マウスの各々に、以下の表に列記した修飾オリゴヌクレオチド 7 0 0 μ g を単回 I C V 投与した。各処理群は 4 匹のマウスからなった。4 匹のマウス群に陰性対照として P B S を投与した。注射後 3 時間時点で、マウスを 7 つの異なる基準に従って評価した。基準は以下の通りである。(1) マウスが、快活であり、機敏であり、反応が良かった。(2) マウスが刺激なしで立ち上がったり、背中を丸めたりした。(3) マウスが刺激なしで何らかの動きを示した。(4) マウスを持ち上げるとマウスが前方への動きを示した。(5) マウスを持ち上げるとマウスが何らかの動きを示した。(6) 尾をつまむとマウスが反応した。(7) 規則的な呼吸。これらの 7 つの基準の各々について、マウスに、基準を満たした場合に 0、満たさなかった場合に 1 のサブスコアを与えた（機能観察バッテリースコアまたは F O B スコア）。7 つ全ての基準を評価した後、スコアをマウス毎に合計し、各処理群内で平均した。結果を以下の表に提示する。

20

表 20

野生型マウスにおける F O B スコア

【表 20】

30

化合物番号	3 時間 F O B
PBS	0.00
1248263	0.00
1248274	0.00
1248283	2.25
1248284	0.00
1248287	1.50
1248288	0.00
1248290	2.25
1248292	0.00

40

表 21

野生型マウスにおける F O B スコア

50

【表 2 1】

化合物番号	3 時間 F O B
PBS	0.00
1247564	2.50
1247565	3.00
1247566	3.00
1247568	5.50

10

表 2 2

野生型マウスにおける F O B スコア

【表 2 2】

化合物番号	3 時間 F O B
PBS	0.00
1269485	1.00
1269486	0.25
1269493	0.00
1269494	0.00
1269495	0.00
1269632	2.00
1269633	1.25
1269634	6.00
1269635	0.00
1269636	1.00
1269637	2.50
1269639	4.00
1269640	0.25

20

30

表 2 3

野生型マウスにおける F O B スコア

40

50

【表 2 3】

化合物番号	3 時間 F O B
PBS	0.00
1287089	1.00
1287091	0.25
1287092	2.75
1287093	1.00
1287094	0.00
1287095	3.00
1287096	0.50
1287098	1.00
1287099	1.00
1287100	0.00
1287101	1.00
1287102	3.00
1287103	0.00
1287104	1.00
1287569	2.00
1287570	0.00
1287612	5.25
1287613	1.00
1287614	0.50
1287615	2.50
1287617	1.00
1287618	1.00
1287619	1.75
1287620	0.50
1287621	0.00

10

20

30

表 2 4
野生型マウスにおける F O B スコア

40

50

【表 2 4】

化合物番号	3 時間 FOB
PBS	0.00
1269442	1.00
1269448	1.25
1269449	2.75
1269454	1.00
1269455	1.00
1269456	3.00
1269457	3.50
1269458	4.50
1269466	0.00
1269468	0.00
1269469	0.00
1269470	0.50
1269471	0.00

10

20

表 2 5
野生型マウスにおける F O B スコア

【表 2 5】

化合物番号	3 時間 FOB
PBS	0.00
1287090	0.00
1287096	0.00
1287099	0.25
1287612	5.50
1287613	1.25
1287614	0.00
1287615	0.00
1287617	2.50
1287618	1.75
1287619	0.75
1287620	0.25
1287750	0.00

30

40

表 2 6
野生型マウスにおける F O B スコア

50

【表 2 6】

化合物番号	3 時間 FOB
PBS	0.00
1288220	1.00
1288221	0.75
1288222	0.00
1288223	1.50
1288287	1.00
1288288	0.25
1288289	1.25

10

表 2 7

野生型マウスにおける F O B スコア

【表 2 7】

化合物番号	3 時間 FOB
PBS	0.00
1295851	4.00
1295854	1.00
1295855	1.75
1295856	4.00
1295858	1.50
1295859	1.00
1295860	1.00
1295861	1.00
1295862	1.50
1295863	1.25
1295864	1.00
1295866	1.00
1295867	1.25
1295868	3.50
1295870	2.50
1295871	1.00
1295872	1.00
1295873	3.25
1295874	1.00
1295875	1.00
1295876	1.00
1295878	1.00
1295879	1.50
1295882	1.00
1304861	1.00
1304862	1.00

20

30

40

50

【配列表】

2022520986000001.app

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US20/19272

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - C12N 15/113; A61K 31/712, 48/00; A61P25/28 (2020.01)

CPC - C12N 15/1137; A61K 31/712, 48/005; A61P 25/28

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 -- A	US 2018/0258425 A1 (IONIS PHARMACEUTICALS, INC., et al.) 13 September 2018; paragraphs [0007], [0008], [0010], [0016], [0206], [0207], [0233]; Table 1	1 -- 2, 3/1-2, 4/3/1-2
A	WO 2018/002886 A1 (CRISPR THERAPEUTICS AG) 4 January 2018; paragraphs [00023], [00058], [000111], [000168]	2, 3/1-2, 4/3/1-2
A	US 2015/0315595 A1 (SANTARIS PHARMA A/S) 5 November 2015; paragraphs [0009], [0037], [0082]	2, 3/1-2, 4/3/1-2
A	(MOORE, LR et al.) Evaluation of Antisense Oligonucleotides Targeting ATXN3 in SCA3 Mouse Models. Molecular Therapy-Nucleic Acids. 16 June 2017, Epub 12 April 2017, Vol. 7; pages 200-210; abstract; Fig. 1D; DOI: 10.1016/j.omtn.2017.04.005	2, 3/1-2, 4/3/1-2
A	(MCLOUGHLIN, HS et al.) Oligonucleotide therapy mitigates disease in Spinocerebellar Ataxia Type 3 mice. Annals of Neurology. July 2018, Epub 6 August 2018, Vol. 84, No. 1; pages 1-23; DOI: 10.1002/ana.25264	1-2, 3/1-2, 4/3/1-2

☐ 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

15 May 2020 (15.05.2020)

Date of mailing of the international search report

01 JUL 2020

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

Shane Thomas

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

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

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US20/19272

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 5-32, 36-46, 56-85
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 supplemental page-***-

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-4, 33-35, 47-55; SEQ ID NO: 11 (oligonucleotide sequence)

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/US20/19272

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

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

Groups I+, Claims 1-4, 33-35, 47-55 and SEQ ID NO: 11 (oligonucleotide sequence) are directed toward modified oligomeric compounds complementary to an ATXN3 nucleic acid.

The modified oligomeric compounds will be searched to the extent they encompass SEQ ID NO: 11 (first exemplary oligonucleotide sequence). Applicant is invited to elect additional oligonucleotide(s), with specified SEQ ID NO: for each, and/or with specified structure(s) for each, such that the sequence and structure of each elected species is fully specified (i.e. no optional or variable bases, modifications or substituents), and where available as an option within at least one searchable claim, to be searched. Additional sequences will be searched upon the payment of additional fees. It is believed that claims 1, and 2-4 (each in-part) encompass this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass SEQ ID NO: 11 (oligonucleotide sequence). Applicants must specify the searchable claims that encompass any additionally elected oligonucleotide sequence(s) and/or structure(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/examined. An exemplary election would be SEQ ID NO: 12 (oligonucleotide sequence).

No technical features are shared between the oligonucleotides of Groups I+ and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features 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 an ATXN3 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 2018/0258425 A1 to Ionis Pharmaceuticals, Inc. et al. (hereinafter 'Ionis').

Ionis discloses an oligomeric compound comprising a modified oligonucleotide consisting of 12 to 50 linked nucleosides (an oligomeric compound comprising a modified oligonucleotide consisting of 15-25 (12 to 50) linked nucleosides; paragraphs [0007], [0010]) wherein the nucleobase sequence of the modified oligonucleotide is at least 90% complementary to an equal length portion of an ATXN3 nucleic acid (wherein the nucleobase sequence of the modified oligonucleotide is complementary (at least 90% complementary) to an equal length portion of an ATXN3 nucleic acid; paragraph [0008]), and wherein the modified oligonucleotide comprises at least one modified sugar moiety modification (wherein the modified oligonucleotide comprises at least one modified sugar moiety modification; paragraph [0007]).

Since none of the special technical features of the Groups I+ inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by the Ionis reference, unity of invention is lacking.

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00
A 6 1 P	25/16	(2006.01)	A 6 1 P	25/16
A 6 1 K	9/08	(2006.01)	A 6 1 K	9/08
A 6 1 K	47/02	(2006.01)	A 6 1 K	47/02
A 6 1 K	31/7115	(2006.01)	A 6 1 K	31/7115
A 6 1 K	47/46	(2006.01)	A 6 1 K	47/46
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00
C 0 7 K	14/47	(2006.01)	C 0 7 K	14/47

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,N
E,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,JO,JP,KE,K
G,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,N
I,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,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁理士 中濱 明子

(72)発明者 チャオ, ヒエン・トイ

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

(72)発明者 コルダシエビッチ, ホリー

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

(72)発明者 バラス, ルーベン・イー

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

F ターム (参考)

4C076 AA12 BB15 BB16 BB21 CC01 DD26 FF70

4C084 AA13 MA01 MA17 MA56 MA66 NA14 ZA01 ZA22

4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA02 MA04 MA05 MA17 MA56 MA66
NA14 ZA01 ZA22

4H045 AA10 AA20 AA30 BA10 CA45 EA21