

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2024-539097

(P2024-539097A)

(43)公表日 令和6年10月28日(2024.10.28)

(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	1 3 0 Z	4 C 0 8 4
A 6 1 P	1/16 (2006.01)	C 1 2 N	15/113	Z N A	4 C 0 8 6
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	1/16		
A 6 1 K	31/7105(2006.01)	A 6 1 P	29/00		
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	31/7105		
		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2024-523434(P2024-523434)		(71)出願人	500203709	
(86)(22)出願日	令和4年10月21日(2022.10.21)			アムジェン インコーポレイテッド	
(85)翻訳文提出日	令和6年4月25日(2024.4.25)			アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 3	
(86)国際出願番号	PCT/US2022/047491			2 0 , サウザンド オークス, ワン ア	
(87)国際公開番号	WO2023/069754			ムジェン センター ドライブ	
(87)国際公開日	令和5年4月27日(2023.4.27)		(74)代理人	100078282	
(31)優先権主張番号	63/270,813			弁理士 山本 秀策	
(32)優先日	令和3年10月22日(2021.10.22)		(74)代理人	100113413	
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)			弁理士 森下 夏樹	
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA		(74)代理人	100181674	
	,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(			弁理士 飯田 貴敏	
	AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A		(74)代理人	100181641	
	T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR			弁理士 石川 大輔	
	,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,		(74)代理人	230113332	
	最終頁に続く			弁理士 山本 健策	
				最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 G P A M発現を阻害するためのRNA i コンストラクト及びその使用方法

(57)【要約】

本開示は、G P A M遺伝子の発現を低下させるためのs i R N AなどのRNA i コンストラクトに関する。非アルコール性脂肪性肝疾患（N A F L D）などの肝疾患を治療又は予防するためにこのようなRNA i コンストラクトを使用する方法も記載される。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

センス鎖及びアンチセンス鎖を含む RNA i コンストラクトであって、前記アンチセンス鎖が、表 1 に列挙されるグリセロール-3-リン酸アシルトランスフェラーゼ、ミトコンドリア (GPAM) mRNA 配列に相補的な領域を含み、前記 RNA i コンストラクトが GPAM の発現を阻害する、RNA i コンストラクト。

【請求項 2】

表 2 に列挙されるアンチセンス配列と 3 ヌクレオチド以下だけ異なる少なくとも 15 個の連続ヌクレオチドを有する領域を含む、請求項 1 に記載の RNA i コンストラクト。

【請求項 3】

前記アンチセンス鎖が、表 1 に列挙される GPAM mRNA 配列にハイブリダイズする、請求項 1 又は請求項 2 に記載の RNA i コンストラクト。

【請求項 4】

前記センス鎖が、約 15 ～約 30 塩基対長の二重鎖領域を形成するために、前記アンチセンス鎖の配列と十分に相補的な配列を含む、請求項 1 ～3 のいずれか一項に記載の RNA i コンストラクト。

【請求項 5】

前記二重鎖領域が、約 17 ～約 24 塩基対長である、請求項 4 に記載の RNA i コンストラクト。

【請求項 6】

前記二重鎖領域が、約 19 ～約 21 塩基対長である、請求項 4 に記載の RNA i コンストラクト。

【請求項 7】

前記二重鎖領域が、19 塩基対長である、請求項 6 に記載の RNA i コンストラクト。

【請求項 8】

前記二重鎖領域が、20 塩基対長である、請求項 6 に記載の RNA i コンストラクト。

【請求項 9】

前記二重鎖領域が、21 塩基対長である、請求項 6 に記載の RNA i コンストラクト。

【請求項 10】

前記センス鎖及び前記アンチセンス鎖が、それぞれ約 15 ～約 30 ヌクレオチド長である、請求項 4 ～9 のいずれか一項に記載の RNA i コンストラクト。

【請求項 11】

前記センス鎖及び前記アンチセンス鎖が、それぞれ約 19 ～約 27 ヌクレオチド長である、請求項 10 に記載の RNA i コンストラクト。

【請求項 12】

前記センス鎖及び前記アンチセンス鎖が、それぞれ約 21 ～約 25 ヌクレオチド長である、請求項 10 に記載の RNA i コンストラクト。

【請求項 13】

前記センス鎖及び前記アンチセンス鎖が、それぞれ約 21 ～約 23 ヌクレオチド長である、請求項 12 に記載の RNA i コンストラクト。

【請求項 14】

少なくとも 1 つの平滑末端を含む、請求項 1 ～13 のいずれか一項に記載の RNA i コンストラクト。

【請求項 15】

1 ～4 個の不對ヌクレオチドの少なくとも 1 つのヌクレオチドオーバーハングを含む、請求項 1 ～13 のいずれか一項に記載の RNA i コンストラクト。

【請求項 16】

前記ヌクレオチドオーバーハングが 2 つの不對ヌクレオチドを有する、請求項 15 に記載の RNA i コンストラクト。

【請求項 17】

前記RNA iコンストラクトが、前記センス鎖の3'末端、前記アンチセンス鎖の3'末端、又は前記センス鎖及び前記アンチセンス鎖の両方の3'末端にヌクレオチドオーバーハングを含む、請求項15又は16に記載のRNA iコンストラクト。

【請求項18】

前記ヌクレオチドオーバーハングが、5'-UU-3'ジヌクレオチド又は5'-dTdT-3'ジヌクレオチドを含む、請求項15～17のいずれか一項に記載のRNA iコンストラクト。

【請求項19】

前記RNA iコンストラクトが、少なくとも1つの修飾ヌクレオチドを含む、請求項1～18のいずれか一項に記載のRNA iコンストラクト。

10

【請求項20】

前記修飾ヌクレオチドが、2'-修飾ヌクレオチドである、請求項19に記載のRNA iコンストラクト。

【請求項21】

前記修飾ヌクレオチドが、2'-フルオロ修飾ヌクレオチド、2'-O-メチル修飾ヌクレオチド、2'-O-メトキシエチル修飾ヌクレオチド、2'-O-アリル修飾ヌクレオチド、二環式核酸(BNA)、グリコール核酸、反転塩基又はこれらの組合せである、請求項19に記載のRNA iコンストラクト。

【請求項22】

前記修飾ヌクレオチドが、2'-O-メチル修飾ヌクレオチド、2'-O-メトキシエチル修飾ヌクレオチド、2'-フルオロ修飾ヌクレオチド又はこれらの組合せである、請求項21に記載のRNA iコンストラクト。

20

【請求項23】

前記センス鎖及び前記アンチセンス鎖内の全てのヌクレオチドが修飾ヌクレオチドである、請求項19に記載のRNA iコンストラクト。

【請求項24】

前記修飾ヌクレオチドが、2'-O-メチル修飾ヌクレオチド、2'-フルオロ修飾ヌクレオチド又はこれらの組合せである、請求項23に記載のRNA iコンストラクト。

【請求項25】

少なくとも1つのホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む、請求項1～24のいずれか一項に記載のRNA iコンストラクト。

30

【請求項26】

前記センス鎖の3'末端に少なくとも1つのホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む、請求項25に記載のRNA iコンストラクト。

【請求項27】

前記センス鎖の3'末端及び5'末端の両方に少なくとも1つのホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む、請求項25に記載のRNA iコンストラクト。

【請求項28】

前記アンチセンス鎖が、表2に列挙されるアンチセンス配列から選択される配列を含む、請求項1～27のいずれか一項に記載のRNA iコンストラクト。

40

【請求項29】

前記センス鎖が、表2に列挙されるセンス配列から選択される配列を含む、請求項28に記載のRNA iコンストラクト。

【請求項30】

表2に列挙される二重鎖化合物のいずれか1つである、請求項1～29のいずれか一項に記載のRNA iコンストラクト。

【請求項31】

請求項1～30のいずれか一項に記載のRNA iコンストラクトであって、対照RNA iコンストラクトとインキュベートされた肝細胞内でのGPAM発現レベルと比較して、前記RNA iコンストラクトとのインキュベーション後の肝細胞内でのGPAMの発現レ

50

ベルを低下させる、RNA i コンストラクト。

【請求項 3 2】

前記肝細胞が Hep G 2 細胞である、請求項 3 1 に記載の RNA i コンストラクト。

【請求項 3 3】

インビトロで Hep G 2 細胞において 5 nM で GPAM 発現を少なくとも 1 0 % 阻害する、請求項 1 ~ 3 2 のいずれか一項に記載の RNA i コンストラクト。

【請求項 3 4】

Hep G 2 細胞における GPAM 発現を約 1 nM 未満の IC 5 0 で阻害する、請求項 1 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の RNA i コンストラクト。

【請求項 3 5】

肝細胞の表面上に発現される 1 つ以上のタンパク質に結合するリガンドをさらに含む、請求項 1 ~ 3 4 のいずれか一項に記載の RNA i コンストラクト。

【請求項 3 6】

請求項 1 ~ 3 5 のいずれか一項に記載の RNA i コンストラクトと、薬学的に許容される担体、賦形剤、又は希釈剤とを含む組成物。

【請求項 3 7】

GPAM の発現の低下を必要とする患者において GPAM の発現を低下させるための方法であって、請求項 1 ~ 3 6 のいずれか一項に記載の RNA i コンストラクトを前記患者に投与することを含む、方法。

【請求項 3 8】

GPAM の発現の低下を必要とする患者において GPAM の発現を低下させるための方法であって、請求項 3 6 に記載の組成物を前記患者に投与することを含む、方法。

【請求項 3 9】

肝細胞における GPAM の発現レベルが、前記 RNA i コンストラクトを受けていない患者における GPAM 発現レベルと比較して、前記 RNA i コンストラクトの投与後の前記患者において低下している、請求項 3 7 又は請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 0】

前記患者が非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）に罹患している、請求項 3 7 ~ 3 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 1】

前記患者が非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）に罹患している、請求項 4 0 に記載の方法。

【請求項 4 2】

NAFLD の治療に使用するための、請求項 1 ~ 3 5 のいずれか一項に記載の RNA i コンストラクト又は請求項 3 6 に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、グリセロール-3-リン酸アシルトランスフェラーゼ、ミトコンドリア（GPAM）の肝臓発現を調節するための組成物及び方法に関する。詳細には、本発明は、RNA 干渉（RNA i）を介して GPAM 発現を低下させるための核酸ベースの治療薬、及びそのような核酸ベースの治療薬を使用して、肝疾患、例えば非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）を処置又は予防する方法に関する。

【背景技術】

【0002】

非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）は、様々な肝臓病理を含む世界で最も一般的な慢性肝疾患であり、その有病率は過去 2 0 年間で倍増し、現在では世界人口の 2 0 % 超が罹患していると推定される（Sattar et al. (2014) BMJ 349 : g4596 ; Loomba and Sanyal (2013) Nature Reviews Gastroenterology & hepatology 10 (1

10

20

30

40

50

1) : 686-690; Kim and Kim (2017) Clin Gastroenterol Hepatol 15 (4) : 474-485; Petta et al. (2016) Dig Liver Dis 48 (3) : 333-342; Huang et al. (2021) Nat Rev Gastro & Hepatology (18) : 223-238)。NAFLDは、肝臓中におけるトリグリセリドの蓄積から始まり、1) 著しい飲酒歴がなく、且つ2) 他の種類の肝疾患の診断が除外されている個体において、5%超の肝細胞に細胞質脂質小滴が存在することによって定義される (Zhu et al (2016) World J Gastroenterol 22 (36) : 8226-33; Rinella (2015) JAMA 313 (22) : 2263-73; Yki-Jarvinen (2016) Diabetologia 59 (6) : 1104-11)。一部の個体では、脂肪症と呼ばれる肝臓への異所性脂肪の蓄積により、炎症及び肝細胞損傷が誘発され、非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) と呼ばれるより進行した段階の疾患が引き起こされる (Rinella、前掲)。2015年の時点で、7500万~1億人のアメリカ人がNAFLDを患っていると予測されており、NASHは、NAFLD診断のおよそ10~30%を占める (Rinella、前掲; Younossi et al (2016) Hepatology 64 (5) : 1577-1586)。

10

【0003】

Genbank XM_005269998.1に見出される配列を有するグリセロール-3-リン酸アシルトランスフェラーゼ、ミトコンドリア (GPAM、GPAT1) は、非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) に関連する。GPAMにおけるミスセンス変異は、過剰な肝臓脂肪の蓄積及び非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) 関連表現型に関連する (Jamialahmadi, O., et al., Exome-Wide Association Study on Alanine Aminotransferase Identifies Sequence Variants in the GPAM and APOE Associated With Fatty Liver Disease. Gastroenterology, 2021. 160 (5) : p. 1634-1646 e7)。

20

現在、NAFLD症状は、薬理的処置が承認されていないので、減量及び任意の二次的症状の処置によって管理されている。従って、罹患した個体においてNAFLDを処置する組成物及び方法が必要とされている。

30

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0004】

【非特許文献1】Sattar et al. (2014) BMJ 349 : g4596

【非特許文献2】Loomba and Sanyal (2013) Nature Reviews Gastroenterology & hepatology 10 (11) : 686-690

【非特許文献3】Kim and Kim (2017) Clin Gastroenterol Hepatol 15 (4) : 474-485

40

【非特許文献4】Petta et al. (2016) Dig Liver Dis 48 (3) : 333-342

【非特許文献5】Huang et al. (2021) Nat Rev Gastro & Hepatology (18) : 223-238

【非特許文献6】Zhu et al (2016) World J Gastroenterol 22 (36) : 8226-33

【非特許文献7】Rinella (2015) JAMA 313 (22) : 2263-73

【非特許文献8】Yki-Jarvinen (2016) Diabetologia 59 (6) : 1104-11

【非特許文献9】Younossi et al (2016) Hepatology 6

50

4 (5) : 1577-1586

【非特許文献10】Jamialahmadi, O., et al., Exome-Wide Association Study on Alanine Aminotransferase Identifies Sequence Variants in the GPAM and APOE Associated With Fatty Liver Disease. Gastroenterology, 2021. 160 (5) : p. 1634-1646 e7

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0005】

本開示は、センス鎖及びアンチセンス鎖を含むRNAiコンストラクトであって、アンチセンス鎖が、表1に記載のGPAM mRNA配列などのGPAM mRNA配列に相補的な配列を有する領域を含み、RNAiコンストラクトがGPAMの発現を阻害するRNAiコンストラクトを提供する。特定の実施形態では、RNAiコンストラクトは、表2に列挙されるアンチセンス配列と3ヌクレオチド以下だけ異なる少なくとも15個の連続的なヌクレオチドを有する領域を含む。いくつかの実施形態において、アンチセンス鎖は、表1に列挙されるGPAM mRNA配列にハイブリダイズする。

【0006】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のRNAiコンストラクトのセンス鎖は、アンチセンス鎖の配列に十分に相補的な配列を含み、約15～約30塩基対長の二重鎖領域を形成する。これら及び他の実施形態では、センス鎖及びアンチセンス鎖の各々は、約15～30ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、RNAiコンストラクトは、少なくとも1つの平滑末端を含む。他の実施形態では、RNAiコンストラクトは、少なくとも1つのヌクレオチドオーバーハングを含む。このようなヌクレオチドオーバーハングは、少なくとも1～6個の不對ヌクレオチドを含み得、且つセンス鎖の3'末端、アンチセンス鎖の3'末端、又はセンス鎖及びアンチセンス鎖の両方の3'末端に位置し得る。特定の実施形態では、RNAiコンストラクトは、センス鎖の3'末端及びアンチセンス鎖の3'末端に2個の不對ヌクレオチドのオーバーハングを含む。他の実施形態では、RNAiコンストラクトは、アンチセンス鎖の3'末端に2個の不對ヌクレオチドのオーバーハングを含み、且つセンス鎖の3'末端／アンチセンス鎖の5'末端に平滑末端を含む。

【0007】

本発明のRNAiコンストラクトは、リボース環、核酸塩基又はホスホジエステル骨格に対する修飾を有するヌクレオチドを含む、1つ以上の修飾ヌクレオチドを含み得る。いくつかの実施形態では、RNAiコンストラクトは、1つ以上の2'-修飾ヌクレオチドを含む。このような2'-修飾ヌクレオチドは、2'-フルオロ修飾ヌクレオチド、2'-オームethyl修飾ヌクレオチド、2'-オームethyl修飾ヌクレオチド、2'-オームethyl修飾ヌクレオチド、2'-オームethyl修飾ヌクレオチド、二環式核酸（BNA）、グリコール核酸（GNA）、反転塩基（例えば、反転アデノシン）又はこれらの組合せを含み得る。特定の実施形態では、RNAiコンストラクトは、1つ以上の2'-フルオロ修飾ヌクレオチド、2'-オームethyl修飾ヌクレオチド、又はこれらの組合せを含む。いくつかの実施形態では、RNAiコンストラクトのセンス鎖及びアンチセンス鎖の全てのヌクレオチドは、修飾ヌクレオチドである。

【0008】

いくつかの実施形態では、RNAiコンストラクトは、修飾ヌクレオチド間結合又はヌクレオチド間結合などの少なくとも1つの骨格修飾を含む。特定の実施形態では、本明細書に記載のRNAiコンストラクトは、少なくとも1つのホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。特定の実施形態では、ホスホロチオエートヌクレオチド間結合は、センス鎖及び／又はアンチセンス鎖の3'末端又は5'末端に配置されてもよい。

【0009】

いくつかの実施形態では、本発明のRNAiコンストラクトのアンチセンス鎖及び／又

10

20

30

40

50

はセンス鎖は、表 2 に列挙されるアンチセンス配列及びセンス配列からの配列を含むか又はそれからなり得る。特定の実施形態では、RNA i コンストラクトは、表 2 に列挙される二重鎖化合物のいずれか 1 つであり得る。

【0010】

本開示はまた、前述の RNA i コンストラクト及び薬学的に許容される担体、賦形剤又は希釈剤を含む組成物、並びにそれを必要とする患者において GPAM の発現を低下させる方法であって、前述の RNA i コンストラクト又は組成物を患者に投与するステップを含む方法を提供する。

【発明を実施するための形態】

【0011】

本発明は、GPAM 遺伝子を標的化し、且つ肝細胞における GPAM の発現を低下させる RNA i コンストラクトの設計及び生成に部分的に基づく。GPAM 発現の特異的阻害は、例えば、単純性脂肪肝（脂肪症）、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、肝硬変（肝臓の不可逆的な進行した瘢痕）、又は GPAM 関連肥満といった肝臓関連疾患等の GPAM 発現と関連する症状を処置又は予防するのに有用である。

【0012】

本開示は、グリセロール-3-リン酸アシルトランスフェラーゼ、ミトコンドリア（GPAM）遺伝子の発現を調節するための組成物及び方法を提供する。いくつかの実施形態では、この遺伝子は、細胞又は哺乳動物（例えば、ヒト）などの対象内に存在し得る。いくつかの実施形態では、本発明の組成物は、GPAM mRNA を標的化し、且つ細胞又は哺乳動物における GPAM 発現を低下させる RNA i コンストラクトを含む。そのような RNA i コンストラクトは、様々な形態の肝臓関連疾患、例えば単純脂肪肝（脂肪症）、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、肝硬変（肝臓の不可逆的な進行性瘢痕化）、又は GPAM 関連肥満を治療又は予防するのに有用である。

【0013】

ヒトの遺伝的証拠は、GPAM における一塩基多型（SNP）rs2792751（T）が「NAFLD 促進性」であることを示している。この SNP は、GPAM におけるアミノ酸変化をもたらす一般的なミスセンス変異：Ile43Val である。この SNP のキャリアは、磁気共鳴イメージングプロトン密度脂肪分率（MRI-PDF）の増加及び脂肪肝及び全原因性肝硬変によるリスクの増加（オッズ比、OR）を示す。担体はまた、血清総コレステロール、LDL、HDL、トリグリセリド（TG）、ALT 及び ALP の増加、好中球及び性ホルモン結合グロブリンレベルの増加を示す（Haas, M. E., et al., Machine learning enables new insights into clinical significance of and genetic contribution to liver fat accumulation. 2020: medRxiv 2020.09.03.20187195; Jamialahmadi, O., et al., Exome-Wide Association Study on Alanine Aminotransferase Identifies Sequence Variants in GPAM and APOE Associated With Fatty Liver Disease. Gastroenterology, 2021. 160 (5): p. 1634-1646 e7; Hammond, L. E., et al., Mitochondrial glycerol-3-phosphate acyltransferase-deficient mice have reduced weight and liver triacylglycerol content and altered glycerolipid fatty acid composition. Mol Cell Biol, 2002. 22 (23): p. 8204-14）。従って、ヒトデータの証拠は、NASH 患者を治療するための GPAM siRNA 媒介療法の正しい方向性を示している。

10

20

30

40

50

【0014】

GPAMの遺伝学は、その作用機構及び生物学について知られていることと一致している。GPAMの機能的酵素的役割は十分に特徴付けられている (Gimeno, R. E. and J. Cao, Thematic review series: glycerolipids. Mammalian glycerol-3-phosphate acyltransferases: new genes for an old activity. *J Lipid Res*, 2008. 49 (10): p. 2079-88; Gonzalez-Baro, M. R., T. M. Lewin, 及び R. A. Coleman, Regulation of Triglyceride Metabolism. II. Function of mitochondrial GPAT1 in the regulation of triacylglycerol biosynthesis and insulin action. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007. 292 (5): p. G1195-9)。主に脂質生成組織で発現されるGPAMタンパク質は、ミトコンドリア外膜に局在し、アシル-CoAをグリセロール-3-リン酸からリゾホスファチジン酸に転移し、TG合成経路の開始に関与する律速段階として働く。GPAM欠損マウスは生存可能であり、生殖可能であり、肉眼的異常を示さない (Hammond et al. (2002))。高脂肪食では、GPAM欠損マウスは、脂肪パットの増加、肝臓TG蓄積、血清脂質の増加から保護され、肝細胞β酸化の増加、血漿ケトンレベル、及びTG合成の減少を示す (Hammond et al. (2002); Hammond, L. E., et al., Mitochondrial glycerol-3-phosphate acyltransferase-1 is essential in liver for the metabolism of excess acyl-CoAs. *J Biol Chem*, 2005. 280 (27): p. 25629-36; Kuhajda, F. P., et al., Pharmacological glycerol-3-phosphate acyltransferase inhibition decreases food intake and adiposity and increases insulin sensitivity in diet-induced obesity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2011. 301 (1): p. R116-30; Wendel, A. A., et al., Glycerol-3-phosphate acyltransferase 1 deficiency in ob/ob mice diminishes hepatic steatosis but does not protect against insulin resistance or obesity. *Diabetes*, 2010. 59 (6): p. 1321-9; Xu, H., et al., Hepatic knockdown of mitochondrial GPAT1 in ob/ob mice improves metabolic profile. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006. 349 (1): p. 439-48)。

10

20

30

40

【0015】

前臨床非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) モデルにおけるGPAMの役割が記載されている (Liao, K., et al., Glycerol-3-phosphate Acyltransferase1 Is a Model-Agnostic Node in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Implications for Drug Development and Precision Medicine. *ACS Omega*, 2020. 5 (29): p. 18465-18471)。NASH及び線維症の程度の増加を誘導するために3つの異なる動物モデルを使用して、増加するGPAM mRNA及びタンパク質発現と、増加するNAFLD活性スコア (NAS) 及び線維症との間の直接的な相関が観察された。GPAM欠損マウスはまた、肝細胞癌 (HCC) から保護されることが示されている (Ellis

50

, J. M., et al., Mice deficient in glycerol-3-phosphate acyltransferase-1 have reduced susceptibility to liver cancer. *Toxicol Pathol*, 2012. 40 (3): p. 513-21)。従って、脂肪症の調節に加えて、データは、肝臓におけるGPAMのサイレンシングが重度の肝臓転帰を改善し得ることを示唆している (Li, X., et al., Genomic analysis of liver cancer unveils novel driver genes and distinct prognostic features. *The Lancet*, 2018. 8 (6): p. 1740-1751; Ng, C. K. Y., et al., Proteogenomic characterization of hepatocellular carcinoma. 2021: bioRxiv 2021. 03. 05. 434147)。

10

【0016】

RNA干渉 (RNAi) は、細胞内に外来のRNAを導入して、標的とするタンパク質をコードするmRNAの特異的な分解をもたらす、その結果としてタンパク質の発現を低減させるプロセスである。RNAi技術及び肝臓への送達の両方の進歩、並びに他のRNAiに基づく療法により増大する良好なアウトカムは、RNAiがGPAMを直接標的化することによりNAFLDを治療するための説得力のある手段であることを示唆している。

【0017】

本明細書中で用いられる用語「RNAiコンストラクト」は、細胞中に導入された際にRNA干渉機構を介して標的遺伝子 (例えばGPAM) の発現を下方制御することができるRNA分子を含む剤を指す。RNA干渉は、核酸分子が、例えば、RNA誘導サイレンシング複合体 (RISC) 経路を介して、配列特異的に標的RNA分子 (例えば、メッセンジャーRNA又はmRNA分子) の切断及び分解を誘導するプロセスである。いくつかの実施形態では、RNAiコンストラクトは、ハイブリダイズして二重鎖領域を形成するのに十分に互いに十分に相補的な、連続したヌクレオチドの2本の逆平行鎖を含む二本鎖RNA (dsRNA) 分子を含む。二本鎖RNAiコンストラクトは、RNAi「トリガー」と呼ばれることもある。用語「ハイブリダイズする」又は「ハイブリダイゼーション」は、典型的には2つのポリヌクレオチドにおける相補的な塩基間の水素結合 (例えば、ワトソン-クリック、フーグスティーン又は逆フーグスティーン水素結合) を介した、相補的なポリヌクレオチドの対形成を指す。標的配列 (例えば、標的mRNA) と実質的に相補的な配列を有する領域を含む鎖は、「アンチセンス鎖」と称されている。「センス鎖」は、アンチセンス鎖のある領域に対して実質的に相補的な領域を含む鎖を指す。いくつかの実施形態において、センス鎖は、標的配列と実質的に同一の配列を有する領域を含み得る。

20

30

【0018】

特定の実施形態において、二本鎖RNAのセンス鎖及びアンチセンス鎖は、ハイブリダイズして二重鎖領域を形成するが、そうでなければ分離している別々の2つの分子であり得る。2つの別々の鎖から形成されるそのような二本鎖RNA分子は、「低分子干渉RNA」又は「短干渉RNA」 (siRNA) と称される。siRNAは、典型的には約20~27塩基対であり、RNAiの中心である非コード二本鎖RNA分子のクラスである。従って、いくつかの実施形態では、本発明のRNAiコンストラクトはsiRNAを含む。他の実施形態では、RNAiコンストラクトは、マイクロRNA (「miRNA」又は「成熟miRNA」としても知られる) であり得る。miRNAは、植物、動物及びいくつかのウイルスに存在する小さい (およそ18~24ヌクレオチド長) 非コードRNA分子である。miRNAはsiRNAに似ているが、miRNAはヘアピンmRNA構造に由来する。miRNAは、標的mRNAの相補的領域に対する塩基対形成によって遺伝子発現を調節する。

40

【0019】

50

いくつかの実施形態では、本発明は、G P A Mを対象としたR N A iコンストラクトである。いくつかの実施形態では、R N A iコンストラクトは、センス鎖及びアンチセンス鎖を含むs i R N Aであり、アンチセンス鎖は、G P A M m R N A配列に相補的な領域を含む。R N A iアンチセンス鎖の領域は、G P A M m R N A配列の任意の適切な領域に相補的であり得る。

【0020】

いくつかの実施形態では、R N A iコンストラクトは、G P A M r s 2 7 9 2 7 5 1 (T) 部位に結合する。しかしながら、開示されたR N A iコンストラクトは、特定のG P A M S N Pにハイブリダイズする必要はない。いくつかの態様において、R N A iコンストラクトは、表1又は表2に示される配列のいずれかを含有するs i R N A分子である。

10

【0021】

二本鎖R N A i分子は、リボヌクレオチドのリボース糖、塩基、又は本明細書中に記載されるもの若しくは当技術分野において知られているもの等の骨格構成要素への修飾が挙げられる、リボヌクレオチドへの化学修飾を含み得る。二本鎖R N A分子（例えば、s i R N A、s h R N A等）に用いられるようなあらゆる修飾が、本開示の目的のための用語「二本鎖R N A」によって包含される。

【0022】

本明細書中で用いられる第1の配列は、生理的条件等のある種の条件下で、第1の配列を含むポリヌクレオチドが、第2の配列を含むポリヌクレオチドにハイブリダイズして二重鎖領域を形成することができるならば、第2の配列に「相補的」である。他のそのような条件として、当業者に知られている中程度の、又はストリンジェントなハイブリダイゼーション条件が挙げられ得る。第1の配列は、第1の配列を含むポリヌクレオチドが、第2の配列を含むポリヌクレオチドと、一方又は双方のヌクレオチド配列の全長にわたって、いかなるミスマッチもなく塩基対形成するならば、第2の配列に対して完全に相補的（100%相補的）であるとみなされる。配列は、標的配列に対して少なくとも約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%相補的であるならば、標的配列と「実質的に相補的」である。相補性パーセントは、第2の配列又は標的配列内の対応する位置の塩基に対して相補的な、第1の配列内の塩基の数を、第1の配列の全長で割ることによって算出することができる。また、2つの配列がハイブリダイズする場合に、30塩基対の二重鎖領域の全体にわたって5、4、3、2、又は1つ以下のミスマッチが存在するならば、一方の配列が、もう一方の配列に対して実質的に相補的であると言えることができる。一般に、何らかのヌクレオチドオーバーハングが本明細書中で定義されるように存在するならば、そのようなオーバーハングの配列は、2つの配列間の相補性の程度を判定する際に、考慮されない。例として、ハイブリダイズして各鎖の3'末端に2ヌクレオチドオーバーハングを有する19塩基対二重鎖領域を形成する、21ヌクレオチド長のセンス鎖及び21ヌクレオチド長のアンチセンス鎖は、この用語が本明細書に使用される場合、完全に相補的であるとみなされることになる。

20

30

【0023】

いくつかの実施形態において、アンチセンス鎖の領域は、標的R N A配列（例えばG P A M m R N A）の領域と完全に相補的な配列を含む。そのような実施形態において、センス鎖は、アンチセンス鎖の配列に対して完全に相補的な配列を含み得る。他のそのような実施形態において、センス鎖は、アンチセンス鎖の配列に対して実質的に相補的な配列、例えばセンス鎖及びアンチセンス鎖によって形成される二重鎖領域内に1、2、3、4、又は5つのミスマッチを有する配列を含み得る。特定の実施形態では、任意のミスマッチが、末端領域内（例えば、鎖の5'及び／又は3'末端の6、5、4、3、2又は1個のヌクレオチド以内）に生じることが好ましい。一実施形態では、センス鎖及びアンチセンス鎖から形成される二重鎖領域内の任意のミスマッチが、望ましくはアンチセンス鎖の5'末端の6、5、4、3、2、又は1ヌクレオチド以内に生じる。

40

【0024】

50

d s R N A の 2 本の実質的に相補的な鎖が別個の R N A 分子によって構成される場合、それらの分子は、共有結合される必要はないが、共有結合することは可能である。2 本の鎖が、二重鎖構造を形成する一方の鎖の 3' 末端と他方の鎖の 5' 末端との間で、ヌクレオチドの中断されていない鎖以外の手段によって共有結合されている場合、その結合構造は「リンカー」と称される。R N A 鎖は、同じ又は異なる数のヌクレオチドを有してもよい。二重鎖内の塩基対の最大数は、d s R N A の最短の鎖のヌクレオチドから、二重鎖内に存在するあらゆるオーバーハングを差し引いた数である。二重鎖構造に加えて、R N A i は、1 つ以上のヌクレオチドオーバーハングを含んでもよい。

【0025】

他の実施形態において、ハイブリダイズして二重鎖領域を形成するセンス鎖及びアンチセンス鎖は、単一 R N A 分子の一部であり得、すなわち、センス鎖及びアンチセンス鎖は、単一 R N A 分子の自己相補的領域の一部である。そのような場合、単一 R N A 分子は、二重鎖領域（ステム領域とも称される）及びループ領域を含む。センス鎖の 3' 末端は、不對ヌクレオチドの隣接配列によってアンチセンス鎖の 5' 末端に連結されて、ループ領域を形成することとなる。ループ領域は、典型的には、アンチセンス鎖がセンス鎖と塩基対を形成して二重鎖又はステム領域を形成し得るように、R N A 分子それ自体が再度折り畳まれることが可能なほど十分に長い。ループ領域は、約 3 ～約 25、約 5 ～約 15、又は約 8 ～約 12 個の不對ヌクレオチドを含み得る。本明細書で述べるように、少なくとも部分的に自己相補的な領域を有するそのような R N A 分子は、「低分子ヘアピン型 R N A」（s h R N A）と称される。いくつかの実施形態では、ループ領域は、少なくとも 1、2、3、4、5、10、20、又は 25 個の不對ヌクレオチドを含み得る。他の実施形態では、ループ領域は、10、9、8、7、6、5、4、3、2 個以下の不對ヌクレオチドを含み得る。特定の実施形態では、本発明の R N A i コンストラクトは、s h R N A を含む。単一の、少なくとも部分的に自己相補的な R N A 分子の長さは、約 35 ヌクレオチド～約 100 ヌクレオチド、約 45 ヌクレオチド～約 85 ヌクレオチド、又は約 50 ～約 60 ヌクレオチドであり得、本明細書に列挙される長さをそれぞれ有する二重鎖領域及びループ領域を含み得る。

【0026】

いくつかの実施形態において、本発明の R N A i コンストラクトは、センス鎖及びアンチセンス鎖を含み、アンチセンス鎖は、G P A M メッセンジャー R N A（m R N A）配列と実質的に、又は完全に相補的な配列を有する領域を含む。本明細書中で用いられる「G P A M m R N A 配列」は、あらゆる種（例えば、マウス、ラット、非ヒト霊長類、ヒト）に由来する G P A M タンパク質のバリエーション又はアイソフォームが挙げられる G P A M タンパク質をコードする、スプライスバリエーションを含むあらゆるメッセンジャー R N A 配列を指す。G P A M タンパク質は、G P A T 又は G P A T 1 としても知られている。

【0027】

また、G P A M m R N A 配列は、その相補的 D N A（c D N A）配列として発現される転写物配列を含む。c D N A 配列は、R N A 塩基（例えば、グアニン、アデニン、ウラシル及びシトシン）ではなく、D N A 塩基（例えば、グアニン、アデニン、チミン及びシトシン）として表される m R N A 転写産物の配列を指す。ゆえに、本発明の R N A i コンストラクトのアンチセンス鎖は、標的の G P A M m R N A 配列又は G P A M c D N A 配列と実質的に、又は完全に相補的な配列を有する領域を含み得る。G P A M m R N A 又は c D N A 配列は、N C B I 参照配列 N M _ 0 0 1 2 4 4 9 4 9 . 2 又は N M _ 0 2 0 9 1 8 . 6 に由来し得るものなどの任意の G P A M m R N A 又は c D N A 配列を含み得るが、これらに限定されない。

【0028】

アンチセンス鎖の領域は、G P A M m R N A 配列の少なくとも 15 個の連続したヌクレオチドと実質的に、又は完全に相補的であり得る。いくつかの実施形態において、相補性の領域をアンチセンス鎖が含む G P A M m R N A 配列の標的領域は、約 15 ～約 30 個の連続したヌクレオチド、約 16 ～約 28 個の連続したヌクレオチド、約 18 ～約 26

個の連続したヌクレオチド、約 17～約 24 個の連続したヌクレオチド、約 19～約 25 個の連続したヌクレオチド、約 19～約 23 個の連続したヌクレオチド、又は約 19～約 21 個の連続したヌクレオチドに及んでよい。特定の実施形態では、GPAM mRNA 配列と実質的に又は完全に相補的な配列を含むアンチセンス鎖の領域は、いくつかの実施形態において、表 2 に列挙されるアンチセンス配列からの少なくとも 15 個の連続したヌクレオチドを含み得る。他の実施形態では、アンチセンス配列は、表 2 に列挙されるアンチセンス配列からの少なくとも 16 個、少なくとも 17 個、少なくとも 18 個又は少なくとも 19 個の連続したヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、センス配列及び／又はアンチセンス配列は、表 2 に列挙される配列からの 1、2、又は 3 個以下のヌクレオチドミスマッチを有する少なくとも 15 個のヌクレオチドを含む。

10

【0029】

RNA i コンストラクトのセンス鎖は、通常、2 本の鎖が生理的条件下でハイブリダイズして二重鎖領域を形成するようにアンチセンス鎖の配列と十分に相補的な配列を含む。「二重鎖領域」は、ワトソン-クリック塩基対形成又は他の水素結合相互作用のいずれかによって互いに塩基対を形成して、2 つのポリヌクレオチド間で二重鎖を作出する 2 つの相補的又は実質的に相補的なポリヌクレオチド内の領域を指す。RNA i コンストラクトの二重鎖領域は、例えば、ダイサー酵素及び／又は RISC 複合体が結合することにより（後述）、RNA i コンストラクトが RNA 干渉経路に入ることを可能にする十分な長さのものであるべきである。例えば、いくつかの実施形態において、二重鎖領域は、約 15～約 30 塩基対長である。また、この範囲内の二重鎖領域の他の長さ、例えば約 15～約 28 塩基対、約 15～約 26 塩基対、約 15～約 24 塩基対、約 15～約 22 塩基対、約 17～約 28 塩基対、約 17～約 26 塩基対、約 17～約 24 塩基対、約 17～約 23 塩基対、約 17～約 21 塩基対、約 19～約 25 塩基対、約 19～約 23 塩基対、又は約 19～約 21 塩基対が適している。一実施形態において、二重鎖領域は、約 17～約 24 塩基対長である。別の実施形態では、二重鎖領域は、約 19～約 21 塩基対長である。

20

【0030】

いくつかの実施形態において、本発明の RNA i コンストラクトは、標的 RNA 配列、例えば、GPAM 標的 mRNA 配列と相互作用して、標的 RNA の切断を導く約 24～約 30 個のヌクレオチドの二重鎖領域を含有する。理論に束縛されるものではないが、細胞に導入された長い二本鎖 RNA は、ダイサーとして知られる III 型エンドヌクレアーゼによって siRNA に分解され得る (Sharp et al., (2001) Genes Dev. 15:485)。ダイサーであるリボヌクレアーゼ III 様酵素は、dsRNA を、特徴的な 2 塩基の 3' オーバーハングを有する 19～23 塩基対の短い干渉 RNA にプロセッシングする (Bernstein, et al., (2001) Nature 409:363)。次に、siRNA は、RNA 誘導サイレンシング複合体 (RISC) 中に組み込まれるが、ここで、1 つ以上のヘリカーゼが siRNA 二重鎖を解いて、相補的なアンチセンス鎖が標的認識をガイドすることを可能にする (Nykanen, et al., (2001) Cell 107:309)。適切な標的 mRNA に結合すると直ぐに、RISC 内の 1 つ以上のエンドヌクレアーゼが標的を切断してサイレンシングを誘導する (Elbashir, et al., (2001) Genes Dev. 15:188)。

30

40

【0031】

センス鎖及びアンチセンス鎖が 2 つの別々の分子である（例えば、siRNA RNA i コンストラクト）実施形態について、センス鎖及びアンチセンス鎖は、二重鎖領域の長さと同じ長さである必要はない。例えば、一方の鎖又は双方の鎖が、二重鎖領域よりも長くてもよく、そして二重鎖領域の側面に位置する 1 個以上の不對ヌクレオチド又はミスマッチを有してもよい。ゆえに、いくつかの実施形態において、RNA i コンストラクトは、少なくとも 1 つのヌクレオチドオーバーハングを含む。本明細書中で用いられる「ヌクレオチドオーバーハング」は、鎖の末端にて、二重鎖領域を越えて延在する不對ヌクレオチド又はヌクレオチドを指す。ヌクレオチドオーバーハングは、典型的には、一方の鎖の

50

3'末端が他方の鎖の5'末端を越えて延在するか、又は一方の鎖の5'末端が他方の鎖の3'末端を越えて延在する場合に生成される。ヌクレオチドオーバーハングの長さは、一般に、1～6ヌクレオチド、1～5ヌクレオチド、1～4ヌクレオチド、1～3ヌクレオチド、2～6ヌクレオチド、2～5ヌクレオチド、又は2～4ヌクレオチドである。いくつかの実施形態において、ヌクレオチドオーバーハングは、1、2、3、4、5、又は6つのヌクレオチドを含む。特定の実施形態において、ヌクレオチドオーバーハングは、1～4つのヌクレオチドを含む。特定の実施形態において、ヌクレオチドオーバーハングは、2つのヌクレオチドを含む。オーバーハングにおけるヌクレオチドは、本明細書に記載される通りのリボヌクレオチド、デオキシリボヌクレオチド、又は修飾ヌクレオチドであり得る。いくつかの実施形態では、オーバーハングは、5'-ウリジンウリジン-3' (10 5'-UU-3') ジヌクレオチドを含む。そのような実施形態では、UUジヌクレオチドは、リボヌクレオチド又は修飾ヌクレオチド、例えば2'-修飾ヌクレオチドを含んでもよい。他の実施形態では、オーバーハングは、5'-デオキシチミジン-デオキシチミジン-3' (5'-dTdT-3') ジヌクレオチドを含む。

【0032】

ヌクレオチドオーバーハングは、一方又は両方の鎖の5'末端又は3'末端に存在してもよい。例えば、一実施形態では、RNA iコンストラクトは、アンチセンス鎖の5'末端及び3'末端にヌクレオチドオーバーハングを含む。別の実施形態では、RNA iコンストラクトは、センス鎖の5'末端及び3'末端にヌクレオチドオーバーハングを含む。いくつかの実施形態では、RNA iコンストラクトは、センス鎖の5'末端及びアンチセンス鎖の5'末端にヌクレオチドオーバーハングを含む。他の実施形態では、RNA iコンストラクトは、センス鎖の3'末端及びアンチセンス鎖の3'末端にヌクレオチドオーバーハングを含む。 20

【0033】

RNA iコンストラクトは、二本鎖RNA分子の一方の末端に単一のヌクレオチドオーバーハングを含み、且つ他の末端に平滑末端を含み得る。「平滑末端」は、センス鎖及びアンチセンス鎖が分子の末端で完全に塩基対を形成しており、二重鎖領域を越えて延在する不對ヌクレオチドがないことを意味する。いくつかの実施形態では、RNA iコンストラクトは、センス鎖の3'末端にヌクレオチドオーバーハングを含み、且つセンス鎖の5'末端及びアンチセンス鎖の3'末端に平滑末端を含む。他の実施形態では、RNA iコンストラクトは、アンチセンス鎖の3'末端にヌクレオチドオーバーハングを含み、且つアンチセンス鎖の5'末端及びセンス鎖の3'末端に平滑末端を含む。特定の実施形態では、RNA iコンストラクトは、二本鎖RNA分子の両末端で平滑末端を含む。そのような実施形態において、センス鎖及びアンチセンス鎖は同じ長さを有し、二重鎖領域は、センス鎖及びアンチセンス鎖と同じ長さである（すなわち、分子は、その全長にわたって二本鎖である）。 30

【0034】

センス鎖及びアンチセンス鎖は、それぞれ独立して、任意の適当な長さ、例えば約15～約30ヌクレオチド長、約18～約28ヌクレオチド長、約19～約27ヌクレオチド長、約19～約25ヌクレオチド長、約19～約23ヌクレオチド長、約21～約25ヌクレオチド長、又は約21～約23ヌクレオチド長であり得る。特定の実施形態では、センス鎖及びアンチセンス鎖は、それぞれ約18、約19、約20、約21、約22、約23、約24又は約25ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、RNA iコンストラクトが2つのヌクレオチドオーバーハングを有するように、センス鎖及びアンチセンス鎖は、同じ長さであるが、これらの鎖よりも短い二重鎖領域を形成する。例えば、一実施形態では、RNA iコンストラクトは、(i) それぞれ21ヌクレオチド長であるセンス鎖及びアンチセンス鎖、(ii) 19塩基対長である二重鎖領域、並びに(iii) センス鎖の3'末端及びアンチセンス鎖の3'末端の両方にある2個の不對ヌクレオチドのヌクレオチドオーバーハングを含む。別の実施形態では、RNA iコンストラクトは、(i) それぞれ23ヌクレオチド長であるセンス鎖及びアンチセンス鎖、(ii) 21塩基対 40 50

長である二重鎖領域、並びに (i i i) センス鎖の 3' 末端及びアンチセンス鎖の 3' 末端の両方にある 2 個の不對ヌクレオチドのヌクレオチドオーバーハングを含む。他の実施形態において、センス鎖及びアンチセンス鎖は、同じ長さを有し、それらの全長にわたって、二本鎖分子のいずれの末端にもヌクレオチドオーバーハングが存在しないように二重鎖領域を形成する。このような一実施形態では、RNA i コンストラクトは、平滑末端であり、(i) それぞれ 21 ヌクレオチド長であるセンス鎖及びアンチセンス鎖、並びに (i i) 21 塩基対長である二重鎖領域を含む。別の実施形態では、RNA i コンストラクトは、平滑末端であり、(i) それぞれ 23 ヌクレオチド長であるセンス鎖及びアンチセンス鎖、並びに (i i) 23 塩基対長である二重鎖領域を含む。

【0035】

10

他の実施形態では、RNA i コンストラクトが少なくとも 1 つのヌクレオチドオーバーハングを含むように、センス鎖又はアンチセンス鎖がもう一方の鎖よりも長く、この 2 本の鎖は、短い方の鎖の長さに等しい長さを有する二重鎖領域を形成する。例えば、一実施形態では、RNA i コンストラクトは、(i) 19 ヌクレオチド長であるセンス鎖、(i i) 21 ヌクレオチド長であるアンチセンス鎖、(i i i) 19 塩基対長の二重鎖領域、及び (i v) アンチセンス鎖の 3' 末端にある 2 個の不對ヌクレオチドの単一ヌクレオチドオーバーハングを含む。別の実施形態では、RNA i コンストラクトは、(i) 21 ヌクレオチド長であるセンス鎖、(i i) 23 ヌクレオチド長であるアンチセンス鎖、(i i i) 21 塩基対長の二重鎖領域、及び (i v) アンチセンス鎖の 3' 末端にある 2 個の不對ヌクレオチドの単一ヌクレオチドオーバーハングを含む。

20

【0036】

本発明の RNA i コンストラクトのアンチセンス鎖は、表 2 に列挙されたアンチセンス配列のいずれか 1 つの配列を含むことができる。

【0037】

修飾ヌクレオチド

本発明の RNA i コンストラクトは、1 つ以上の修飾ヌクレオチドを含み得る。「修飾ヌクレオチド」は、ヌクレオシド、核酸塩基、ペントース環、又はリン酸基への 1 つ以上の化学修飾を有するヌクレオチドを指す。本明細書で使用する場合、修飾ヌクレオチドは、アデノシンーリン酸、グアノシンーリン酸、ウリジンーリン酸、及びシチジンーリン酸を含有するリボヌクレオチド、並びにデオキシアデノシンーリン酸、デオキシグアノシンーリン酸、デオキシチミジンーリン酸、及びデオキシシチジンーリン酸を含有するデオキシリボヌクレオチドを包含しない。しかしながら、RNA i コンストラクトは、修飾ヌクレオチド、リボヌクレオチド及びデオキシリボヌクレオチドの組合せを含み得る。二本鎖 RNA 分子の一方又は双方の鎖中への修飾ヌクレオチドの組み込みは、例えば、ヌクレアーゼ及び他の分解プロセスに対する分子の感受性を低下させることによって、RNA 分子のインビボ安定性を向上させることができる。修飾ヌクレオチドの組み込みにより、標的遺伝子の発現を低下させるための RNA i コンストラクトの効力を増強させることもできる。

30

【0038】

特定の実施形態では、修飾ヌクレオチドは、リボース糖の修飾を有する。これらの糖の修飾には、ペントース環の 2' 及び／又は 5' 位での修飾並びに二環式糖修飾が含まれ得る。2' - 修飾ヌクレオチドは、H 又は OH 以外の置換基を 2' 位に有するペントース環を有するヌクレオチドを指す。このような 2' 修飾としては、2' - O - アルキル (例えば、O - C1 ~ C10 又は O - C1 ~ C10 置換アルキル)、2' - O - アリル (O - CH2 C H = C H2)、2' - C - アリル、2' - フルオロ、2' - O - メチル (O C H3)、2' - O - メトキシエチル (O - (C H2)2 O C H3)、2' - O C F3、2' - O (C H2)2 S C H3、2' - O - アミノアルキル、2' - アミノ (例えば、NH2)、2' - O - エチルアミン及び 2' - アジドが挙げられるが、これらに限定されない。ペントース環の 5' 位での修飾としては、5' - メチル (R 又は 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。

40

50

【0039】

「二環式糖修飾」は、環の2個の原子を架橋により連結して第2の環を形成して二環式糖構造を生じさせる、ペントース環の修飾を指す。いくつかの実施形態では、二環式糖修飾は、ペントース環の4'炭素と2'炭素との間の架橋を含む。二環式糖修飾を有する糖部分を含むヌクレオチドは、本明細書中で二環式核酸又はBNAと称される。例示的な二環式糖修飾としては、 α -L-メチレンオキシ(4'-CH₂-O-2')二環式核酸(BNA)； β -D-メチレンオキシ(4'-CH₂-O-2')BNA(ロックド核酸又はLNAとも称される)；エチレンオキシ(4'-(CH₂)₂-O-2')BNA；アミノオキシ(4'-CH₂-O-N(R)-2')BNA；オキシアミノ(4'-CH₂-N(R)-O-2')BNA；メチル(メチレンオキシ)(4'-CH(CH₃)-O-2')BNA(拘束エチル又はcEtとも称される)；メチレン-チオ(4'-CH₂-S-2')BNA；メチレン-アミノ(4'-CH₂-N(R)-2')BNA；メチル炭素環式(4'-CH₂-CH(CH₃)-2')BNA；プロピレン炭素環式(4'-(CH₂)₃-2')BNA；及びメトキシ(エチレンオキシ)(4'-CH(CH₂OMe)-O-2')BNA(拘束MOE又はcMOEとも称される)が挙げられるが、これらに限定されない。本発明のRNA iコンストラクトに組み込むことができるこれら及び他の糖修飾ヌクレオチドは、例えば、米国特許第9,181,551号明細書、米国特許出願公開第2016/0122761号明細書及びDeleavey and Damha, Chemistry and Biology, 19:937-954(2012)に記載されている。

10

【0040】

いくつかの実施形態では、RNA iコンストラクトは、1つ以上の2'-フルオロ修飾ヌクレオチド、2'-O-メチル修飾ヌクレオチド、2'-O-メトキシエチル修飾ヌクレオチド、2'-O-アリル修飾ヌクレオチド、二環式核酸(BNA)、又はこれらの組合せを含む。特定の実施形態では、RNA iコンストラクトは、1つ以上の2'-フルオロ修飾ヌクレオチド、2'-O-メチル修飾ヌクレオチド、2'-O-メトキシエチル修飾ヌクレオチド又はこれらの組合せを含む。特定の実施形態では、RNA iコンストラクトは、1つ以上の2'-フルオロ修飾ヌクレオチド、2'-O-メチル修飾ヌクレオチド、又はこれらの組合せを含む。

20

【0041】

RNA iコンストラクトのセンス鎖及びアンチセンス鎖の両方は、1つ又は複数の修飾ヌクレオチドを含み得る。例えば、いくつかの実施形態において、センス鎖は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10個以上の修飾ヌクレオチドを含む。特定の実施形態において、センス鎖内の全てのヌクレオチドが修飾ヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、アンチセンス鎖は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10個又はそれを超える修飾ヌクレオチドを含む。他の実施形態において、アンチセンス鎖内の全てのヌクレオチドが修飾ヌクレオチドである。特定の他の実施形態において、センス鎖内の全てのヌクレオチド及びアンチセンス鎖内の全てのヌクレオチドが修飾ヌクレオチドである。これら及び他の実施形態では、修飾ヌクレオチドは、2'-フルオロ修飾ヌクレオチド、2'-O-メチル修飾ヌクレオチド又はこれらの組合せであり得る。

30

【0042】

いくつかの実施形態において、センス鎖及び／又はアンチセンス鎖においてアデノシンヌクレオチドの前にあるすべてのピリミジンヌクレオチドは修飾ヌクレオチドである。例えば、いずれかの鎖で配列5'-CA-3'又は5'-UA-3'が現れる場合、シチジン及びウリジンヌクレオチドは、修飾ヌクレオチドであり、好ましくは2'-O-メチル修飾ヌクレオチドである。特定の実施形態では、センス鎖内の全てのピリミジンヌクレオチドは、修飾ヌクレオチド(例えば、2'-O-メチル修飾ヌクレオチド)であり、アンチセンス鎖内に存在する全ての配列5'-CA-3'又は5'-UA-3'の5'ヌクレオチドは、修飾ヌクレオチド(例えば、2'-O-メチル修飾ヌクレオチド)である。他の実施形態では、二重鎖領域内の全てのヌクレオチドが修飾ヌクレオチドである。このような実施形態では、修飾ヌクレオチドは、好ましくは、2'-O-メチル修飾ヌクレオチド、2'-フ

40

50

ルオ口修飾ヌクレオチド又はこれらの組合せである。

【0043】

RNAiコンストラクトがヌクレオチドオーバーハングを含む実施形態では、オーバーハング内のヌクレオチドは、リボヌクレオチド、デオキシリボヌクレオチド又は修飾ヌクレオチドであり得る。一実施形態では、オーバーハング内のヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド、例えばデオキシチミジンである。別の実施形態では、オーバーハング内のヌクレオチドは、修飾ヌクレオチドである。例えば、いくつかの実施形態では、オーバーハング内のヌクレオチドは、2'-O-メチル修飾ヌクレオチド、2'-フルオロ修飾ヌクレオチド、2'-メトキシエチル修飾ヌクレオチド又はこれらの組合せである。

【0044】

本開示のRNAiコンストラクトはまた、1つ以上の修飾ヌクレオチド間結合を含み得る。本明細書で使用する場合、用語「修飾ヌクレオチド間結合」は、天然の3'-5'ホスホジエステル結合以外のヌクレオチド間の結合を指す。いくつかの実施形態では、修飾ヌクレオチド間結合は、ホスホトリエステル、アミノアルキルホスホトリエステル、アルキルホスホナート（例えば、メチルホスホナート、3'-アルキレンホスホナート）、ホスフィナート、ホスホロアミダート（例えば、3'-アミノホスホロアミダート及びアミノアルキルホスホロアミダート）、ホスホロチオエート（P=S）、キラルホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、チオノホスホロアミダート、チオノアルキルホスホナート、チオノアルキルホスホトリエステル及びボラノホスフェートなどのリン含有ヌクレオチド間結合である。一実施形態では、修飾ヌクレオチド間結合は、2'-5'ホスホジエステル結合である。他の実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合は、リン非含有ヌクレオチド間結合であるため、修飾ヌクレオチド間結合と称され得る。そのようなリン非含有結合として、モルホリノ結合（一部はヌクレオシドの糖部分から形成される）；シロキサン結合（ $-O-Si(H)_2-O-$ ）；スルフィド、スルホキシド、及びスルホン結合；ホルムアセチル及びチオホルムアセチル結合；アルケン含有骨格；スルファメート骨格；メチレンメチルイミノ（ $-CH_2-N(CH_3)-O-CH_2-$ ）及びメチレンヒドラジノ結合；スルホネート及びスルホンアミド結合；アミド結合；並びにN、O、S、及びCH₂構成要素部分が混合された他のものが挙げられるが、これらに限定されない。一実施形態において、修飾ヌクレオチド間結合は、米国特許第5,539,082号明細書、米国特許第5,714,331号明細書、及び米国特許第5,719,262号明細書に記載されているもの等のペプチド核酸又はPNAを作出するためのペプチドベースの結合（例えばアミノエチルグリシン）である。開示されたRNAiコンストラクトに使用され得る他の適切な修飾されたヌクレオチド間及びヌクレオシド間結合は、米国特許第6,693,187号明細書及び第9,181,551号明細書、米国特許出願公開第2016/0122761号明細書、並びにDeleavey及びDamha、上記に記載されている。

【0045】

特定の実施形態では、RNAiコンストラクトは、1つ以上のホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。ホスホロチオエートヌクレオチド間結合は、RNAiコンストラクトのセンス鎖、アンチセンス鎖又は両方の鎖に存在し得る。例えば、いくつかの実施形態において、センス鎖は、1、2、3、4、5、6、7、8つ以上のホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。他の実施形態において、アンチセンス鎖は、1、2、3、4、5、6、7、8個以上のホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。さらに他の実施形態において、双方の鎖は、1、2、3、4、5、6、7、8つ以上のホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。RNAiコンストラクトは、センス鎖、アンチセンス鎖又は両方の鎖の3'末端、5'末端又は3'末端及び5'末端の両方に1つ以上のホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含み得る。例えば、特定の実施形態では、RNAiコンストラクトは、センス鎖、アンチセンス鎖又は両方の鎖の3'末端に、約1つ〜約6つ以上（例えば、約1、2、3、4、5、6つ以上）の連続したホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。他の実施形態では、RNAiコンストラクトは、センス鎖、アンチセン

ス鎖又は両方の鎖の 5' 末端に約 1 つ～約 6 つ以上（例えば、約 1、2、3、4、5、6 つ以上）の連続したホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。一実施形態において、RNA i コンストラクトは、センス鎖の 3' 末端に単一のホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。一実施形態では、RNA i コンストラクトは、センス鎖の 3' 末端に単一のホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含み、且つアンチセンス鎖の 3' 末端に単一のホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。一実施形態では、RNA i コンストラクトは、センス鎖の 5' 末端に単一のホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含み、且つセンス鎖の 3' 末端に単一のホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。一実施形態では、RNA i コンストラクトは、アンチセンス鎖の 5' 末端に単一のホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含み、且つアンチセンス鎖の 3' 末端に単一のホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。別の実施形態では、RNA i コンストラクトは、アンチセンス鎖の 3' 末端に 2 つの連続したホスホロチオエートヌクレオチド間結合（すなわちアンチセンス鎖の 3' 末端における第 1 及び第 2 のヌクレオチド間結合でのホスホロチオエートヌクレオチド間結合）を含む。別の実施形態では、RNA i コンストラクトは、アンチセンス鎖の 3' 末端及び 5' 末端の両方に 2 つの連続したホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。さらに別の実施形態では、RNA i コンストラクトは、アンチセンス鎖の 3' 末端及び 5' 末端の両方に 2 つの連続したホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含み、且つセンス鎖の 5' 末端に 2 つの連続したホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む。さらに別の実施形態では、RNA i コンストラクトは、アンチセンス鎖の 3' 末端及び 5' 末端の両方に 2 つの連続したホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含み、且つセンス鎖の 3' 末端及び 5' 末端の両方に 2 つの連続したホスホロチオエートヌクレオチド間結合を（すなわちアンチセンス鎖の 5' 末端及び 3' 末端の両方において第 1 及び第 2 のヌクレオチド間結合でのホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含み、且つセンス鎖の 5' 末端及び 3' 末端の両方において第 1 及び第 2 のヌクレオチド間結合でのホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む）含む。一方又は両方の鎖が 1 つ以上のホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む実施形態のいずれかでは、鎖内の残りのヌクレオチド間結合は、天然の 3' - 5' ホスホジエステル結合であり得る。例えば、いくつかの実施形態において、センス鎖及びアンチセンス鎖の各ヌクレオチド間結合は、ホスホジエステル及びホスホロチオエートから選択され、少なくとも 1 つのヌクレオチド間結合はホスホロチオエートである。

10

20

30

40

50

【0046】

RNA i コンストラクトがヌクレオチドオーバーハングを含む実施形態において、オーバーハング内の不對ヌクレオチドの 2 つ以上が、ホスホロチオエートヌクレオチド間結合によって連結されていてよい。特定の実施形態では、アンチセンス鎖及び／又はセンス鎖の 3' 末端のヌクレオチドオーバーハングにおける全ての不對ヌクレオチドは、ホスホロチオエートヌクレオチド間結合によって連結されている。他の実施形態では、アンチセンス鎖及び／又はセンス鎖の 5' 末端のヌクレオチドオーバーハングにおける全ての不對ヌクレオチドは、ホスホロチオエートヌクレオチド間結合によって連結されている。更に他の実施形態では、あらゆるヌクレオチドオーバーハング内の全ての不對ヌクレオチドが、ホスホロチオエートヌクレオチド間結合によって連結されている。

【0047】

特定の実施形態では、本発明の RNA i コンストラクトの鎖の一方又は両方に組み込まれる修飾ヌクレオチドは、核酸塩基（本明細書では「塩基」とも称される）の修飾を有する。「修飾核酸塩基」又は「修飾塩基」は、天然に存在するプリン塩基であるアデニン（A）及びグアニン（G）、並びにピリミジン塩基であるチミン（T）、シトシン（C）、及びウラシル（U）以外の塩基を指す。修飾核酸塩基は、合成的な修飾又は天然に存在する修飾であってもよく、且つユニバーサル塩基、5-メチルシトシン（5-me-C）、5-ヒドロキシメチルシトシン、キサントシン（X）、ヒポキサントシン（I）、2-アミノアデニン、6-メチルアデニン、6-メチルグアニン並びにアデニン及びグアニンの他のアルキル誘導体、アデニン及びグアニンの 2-プロピル並びに他のアルキル誘導体、2-

チオウラシル、2-チオチミン及び2-チオシトシン、5-ハロウラシル及びシトシン、5-プロピニルウラシル及びシトシン、6-アゾウラシル、シトシン及びチミン、5-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、8-チオアルキル、8-ヒドロキシル及び他の8-置換アデニン及びグアニン、5-ハロ、特に5-プロモ、5-トリフルオロメチル及び他の5-置換ウラシル及びシトシン、7-メチルグアニン及び7-メチルアデニン、8-アザグアニン及び8-アザアデニン、7-デアザグアニン及び7-デアザアデニン並びに3-デアザグアニン及び3-デアザアデニンを含むことができるが、これらに限定されない。

【0048】

いくつかの実施形態において、修飾塩基はユニバーサル塩基である。「ユニバーサル塩基」は、結果として生じる二重鎖領域の二重らせん構造を変えないことなく、RNA及びDNA内の天然の塩基の全てと無差別に塩基対を形成する塩基類似体を指す。ユニバーサル塩基は、当業者に知られており、これとして、イノシン、C-フェニル、C-ナフチル、及び他の芳香族誘導体、アゾールカルボキサミド、並びに3-ニトロピロール、4-ニトロインドール、5-ニトロインドール、及び6-ニトロインドール等のニトロアゾール誘導体が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0049】

本発明のRNAiコンストラクトに組み込むことができる他の好適な修飾塩基としては、例えばHerdewijn, Antisense Nucleic Acid Drug Dev., 10:297-310, 2000及びPeacock et al., J. Org. Chern., 76:7295-7300 (2011)に記載のものが挙げられる。グアニン、シトシン、アデニン、チミン、及びウラシルは、上述の修飾核酸塩基等の他の核酸塩基によって置換され得る（但し、そのような置換核酸塩基を有するヌクレオチドを含むポリヌクレオチドの塩基対形成特性を実質的に変えない）ことを当業者は十分に認識している。

20

【0050】

いくつかの実施形態では、本開示のRNAiコンストラクトのセンス鎖、アンチセンス鎖、又はアンチセンス鎖及びセンス鎖の両方の5'末端は、ホスフェート部分を含む。本明細書中で用いられる用語「ホスフェート部分」は、非修飾ホスフェート（-O-P=O）（OH）OH）及び修飾ホスフェートを含む末端ホスフェート基を指す。修飾ホスフェートは、O及びOH基の1つ以上がH、O、S、N（R）又はアルキルで置換されており、RがH、アミノ保護基又は非置換若しくは置換アルキルであるホスフェートを含む。例示的なホスフェート部分としては、5'-モノホスフェート；5'-ジホスフェート；5'-トリホスフェート；5'-グアノシンキャップ（7-メチル化若しくは非メチル化）；5'-アデノシンキャップ又は任意の他の修飾若しくは非修飾ヌクレオチドキャップ構造；5'-モノチオホスフェート（ホスホロチオエート）；5'-モノジチオホスフェート（ホスホロジチオエート）；5'- α -チオトリホスフェート；5'- γ -チオトリホスフェート；5'-ホスホロアミダート；5'-ビニルホスフェート；5'-アルキルホスホナート（ここで、「アルキル」はメチル、エチル、イソプロピル、プロピルなどであり得る）；及び5'-アルキルエーテルホスホナート（ここで、「アルキルエーテル」はメトキシメチル、エトキシメチルなどであり得る）が挙げられるが、これらに限定されない。

30

40

【0051】

本発明のRNAiコンストラクトに組み込むことができる修飾ヌクレオチドは、本明細書に記載される2つ以上の化学修飾を有し得る。例えば、修飾ヌクレオチドは、リボース糖への修飾及び核酸塩基への修飾を有し得る。例として、修飾ヌクレオチドは、2'糖修飾（例えば、2'-フルオロ又は2'-メチル）を含み得、修飾塩基（例えば、5-メチルシトシン又はシュドウラシル）を含み得る。他の実施形態では、修飾ヌクレオチドは、5'ホスフェートへの修飾と組み合わされた糖修飾を含んでもよく、これにより、修飾ヌクレオチドがポリヌクレオチドに組み込まれたときに、修飾されたヌクレオチド間又はヌクレオチド間結合を生成することになる。例えば、いくつかの実施形態では、修飾ヌクレ

50

オチドは、糖修飾、例えば 2'-フルオロ修飾、2'-O-メチル修飾又は二環式糖修飾及び 5'-ホスホロチオエート基を含み得る。従って、いくつかの実施形態では、本発明の RNAi コンストラクトの一方又は両方の鎖は、2'修飾ヌクレオチド又は BNA 及びホスホロチオエートヌクレオチド間結合の組合せを含む。特定の実施形態では、本発明の RNAi コンストラクトのセンス鎖及びアンチセンス鎖の両方は、2'-フルオロ修飾ヌクレオチド、2'-O-メチル修飾ヌクレオチド及びホスホロチオエートヌクレオチド間結合の組合せを含む。修飾ヌクレオチド及び修飾ヌクレオチド間結合を含む例示的な RNAi コンストラクトを表 2 に示す。

【0052】

RNAi コンストラクトの機能

本発明の RNAi コンストラクトは、望ましくは、細胞、特に肝細胞における GPAM の発現を低下させるか又は阻害する。従って、一実施形態において、本発明は、細胞を本明細書中に記載されるあらゆる RNAi コンストラクトと接触させることによって、細胞内での GPAM 発現を低下させる方法を提供する。細胞は、インビトロ又はインビボであり得る。GPAM 発現は、GPAM mRNA、GPAM タンパク質、又は GPAM 発現と関連する別のバイオマーカーの量又はレベルを測定することによって評価することができる。本発明の RNAi コンストラクトで処理された細胞又は動物における GPAM 発現の低下は、RNAi コンストラクトで処理されていないか又は対照 RNAi コンストラクトで処理された細胞又は動物における GPAM 発現と比較して判定することができる。例えば、いくつかの実施形態では、GPAM 発現の低下は、(a) 本発明の RNAi コンストラクトで処置した肝細胞における GPAM mRNA の量又はレベルを測定すること、(b) 対照 RNAi コンストラクト（例えば、肝細胞に発現しない RNA 分子を対象とする RNAi コンストラクト、又はナンセンス配列若しくはスクランブル配列を有する RNAi コンストラクト）で処置した肝細胞、或いはコンストラクトなしで処置した肝細胞における GPAM mRNA の量又はレベルを測定すること、及び (c) (a) で処置した細胞から測定した GPAM mRNA レベルを、(b) の対照細胞から測定した GPAM mRNA レベルと比較することによって評価する。処理された細胞及び対照細胞における GPAM mRNA レベルは、比較前に、対照遺伝子（例えば、18S リボソーム RNA）について、RNA レベルに関して正規化されてもよい。GPAM mRNA レベルは、ノーザンブロット分析、ヌクレアーゼプロテクションアッセイ、蛍光インサイチュハイブリダイゼーション (FISH)、逆転写酵素 (RT) - PCR、リアルタイム RT-PCR、及び定量 PCR が挙げられる種々の方法によって測定することができる。

【0053】

他の実施形態では、GPAM 発現の低下は、(a) 本発明の RNAi コンストラクトで処置した肝細胞における GPAM タンパク質の量又はレベルを測定すること、(b) 対照 RNAi コンストラクト（例えば、肝細胞に発現しない RNA 分子を対象とする RNAi コンストラクト、又はナンセンス配列若しくはスクランブル配列を有する RNAi コンストラクト）で処置した肝細胞、或いはコンストラクトなしで処置した肝細胞における GPAM タンパク質の量又はレベルを測定すること、及び (c) (a) で処置した細胞から測定した GPAM タンパク質レベルを、(b) の対照細胞から測定した GPAM タンパク質レベルと比較することによって評価する。GPAM タンパク質レベルは、ウェスタンブロット、イムノアッセイ（例えば、ELISA）及びフローサイトメトリーを含むがこれらに限定されない、当業者に公知の任意の適切な方法を用いて測定することができる。GPAM mRNA 又はタンパク質を測定する任意の適切な方法を使用して、本発明の RNAi コンストラクトの有効性を評価することができる。

【0054】

いくつかの実施形態において、GPAM 発現レベルを評価するための方法は、GPAM を自然に発現する細胞（例えば肝細胞）又は GPAM を発現するように操作された細胞においてインビトロで実施される。特定の実施形態では、本方法は、肝細胞においてインビトロで実施される。適切な肝細胞としては、初代肝細胞（例えば、ヒト、非ヒト霊長類、

10

20

30

40

50

又は齧歯類の肝細胞)、HepAD38細胞、HuH-6細胞、HuH-7細胞、HuH-5-2細胞、BNLCL2細胞、Hep3B細胞、又はHepG2細胞が挙げられるが、これらに限定されない。一実施形態では、肝細胞は、Hep3B細胞である。別の実施形態では、肝細胞は、HepG2細胞である。

【0055】

他の実施形態において、GPAM発現レベルを評価する方法は、インビボで実施される。例えば、RNAiコンストラクト及び任意の対照RNAiコンストラクトを動物（例えば、齧歯類又は非ヒト霊長類）に投与することができ、処置後の動物から採取した肝臓組織でGPAM mRNA又はタンパク質レベルを評価することができる。代わりに、又は加えて、GPAM発現と関連するバイオマーカー又は機能表現型を、処理した動物において評価することができる。

10

【0056】

特定の実施形態において、GPAMの発現は、本発明のRNAiコンストラクトによって、肝細胞内で少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、又は少なくとも50%低下する。いくつかの実施形態において、GPAMの発現は、本発明のRNAiコンストラクトによって、肝細胞内で少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、又は少なくとも85%低下する。他の実施形態において、GPAMの発現は、本発明のRNAiコンストラクトによって、肝細胞内で約90%以上、例えば91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%以上低下する。GPAM発現の低下パーセントは、本明細書中に記載される方法のいずれか、又は当技術分野において知られている他の方法によって測定することができる。例えば、特定の実施形態では、本発明のRNAiコンストラクトは、インビトロでHepG2細胞（I43V変異を有するGPAMを含む）において5nMでGPAM発現の少なくとも45%を阻害する。関連する実施形態では、本発明のRNAiコンストラクトは、インビトロのHepG2細胞において5nMでGPAM発現の少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%又は少なくとも75%を阻害する。他の実施形態では、本発明のRNAiコンストラクトは、インビトロのHepG2細胞において5nMでGPAM発現の少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも94%、少なくとも96%、又は少なくとも98%を阻害する。GPAMの低下は、例えばRNA FISH又は液滴デジタルPCRを含む様々な技術を用いて測定することができる（例えばKamitaki et al., Digital PCR. Methods in Molecular Biology, 1768: 401-422 (2018). doi: 10.1007/978-1-4939-7778-9_23）を含む様々な技術を用いて測定することができる。

20

30

【0057】

いくつかの実施形態において、IC50値を算出して、肝細胞内でのGPAM発現の阻害について、本発明のRNAiコンストラクトの効力を評価する。「IC50値」は、生物学的又は生化学的機能の50%阻害を達成するのに要求される用量／濃度である。任意の物質又はアンタゴニストのIC50値は、任意のアッセイにおいて、用量反応曲線を構築し、発現レベル又は機能活性に及ぼす種々の濃度の物質又はアンタゴニストの効果を試験することによって決定することができる。最大の生物学的応答又は本来の発現レベルの半分を阻害するのに必要な濃度を決定することにより、所与のアンタゴニスト又は物質のIC50値を計算することができる。従って、任意のRNAiコンストラクトについてのIC50値は、免疫アッセイ、RNA FISHアッセイ又は液滴デジタルPCRアッセイなどの任意のアッセイにおいて、肝細胞における天然GPAM発現レベル（例えば、対照肝細胞におけるGPAM発現レベル）の半分を阻害するのに必要なRNAiコンストラクトの濃度を決定することによって計算することができる。本発明のRNAiコンストラクトは、約20nM未満のIC50（例えば、約15nM、10nM、5nM又は1nM

40

50

未満)で肝細胞(例えばHepG2細胞)におけるGPAM発現を阻害し得る。例えば、開示されるRNAiコンストラクトは、約0.001nM~約20nM、約0.001nM~約10nM、約0.001nM~約5nM、約0.001nM~約1nM、約0.1nM~約10nM、約0.1nM~約5nM又は約0.1nM~約1nMのIC50で肝細胞におけるGPAM発現を阻害し得る。特定の実施形態において、RNAiコンストラクトは、約1nM~約10nMのIC50で肝細胞(例えばHepG2細胞)内でのGPAM発現を阻害する。

【0058】

本発明のRNAiコンストラクトは、当技術分野において公知の技術を用いて、例えば従来の核酸固相合成法を用いて容易に作製することができる。RNAiコンストラクトのポリヌクレオチドは、標準的なヌクレオチド又はヌクレオシド前駆体(例えばホスホラミダイト)を利用して、適切な核酸合成装置でアセンブルすることができる。自動核酸合成装置が、いくつかのベンダーによって市販されており、Applied Biosystems(Foster City, CA)のDNA/RNA合成装置、BioAutomation(Irving, TX)のMerMade合成装置、及びGE Healthcare Life Sciences(Pittsburgh, PA)のOligo Pilot合成装置が挙げられる。

【0059】

リボヌクレオシドの5'位で酸解離性ジメトキシトリチル(DMT)とともに2'シリル保護基を使用して、ホスホラミダイト化学を介してオリゴヌクレオチドを合成することができる。最終脱保護条件は、RNA産物を著しく分解しないことが知られている。全ての合成は、任意の自動又は手動合成装置により、大規模、中規模、又は小規模で行うことができる。また、合成は、複数のウェルプレート、カラム、又はスライドガラスにおいて実行することができる。

【0060】

2'-O-シリル基は、フッ化物イオンに曝露することによって除去することができ、フッ化物イオンは、フッ化物イオンの任意の供給源、例えば無機対イオンと対になるフッ化物イオンを含有する塩、例えばフッ化セシウム及びフッ化カリウム又は有機対イオンと対になるフッ化物イオンを含有する塩、例えばフッ化テトラアルキルアンモニウムを含むことができる。クラウンエーテル触媒が、脱保護反応において無機フッ化物と組み合わせることで利用され得る。例示的なフッ化物イオン供給源としては、フッ化テトラブチルアンモニウム又はアミンヒドロフルオライド(例えば、双極性非プロトン溶媒、例えばジメチルホルムアミド中でトリエチルアミンと水性HFとを組み合わせる)が挙げられるが、これらに限定されない。

【0061】

亜リン酸トリエステル及びホスホトリエステルに用いられる保護基の選択により、フッ化物に対するトリエステルの安定性を改変することができる。ホスホトリエステル又は亜リン酸トリエステルのメチル保護は、フッ化物イオンに対する結合を安定化させ、且つプロセス収率を向上させることができる。

【0062】

リボヌクレオシドは、反応性の2'ヒドロキシル置換基を有するため、RNAにおける反応性の2'位を、5'-O-ジメトキシトリチル保護基に対して直交性である保護基、例えば酸処理に対して安定であるもので保護することが望ましい場合がある。シリル保護基が、この条件を満たしており、最終的なフッ化物脱保護工程において容易に除去され得、これにより、RNA分解を最小減に抑えることが可能となる。

【0063】

テトラゾール触媒を、標準的なホスホラミダイトカップリング反応に用いることができる。例示的な触媒は、例えば、テトラゾール、S-エチル-テトラゾール、ベンジルチオテトラゾール、及びp-ニトロフェニルテトラゾールを含む。

【0064】

本明細書に記載のRNAiコンストラクトを合成する更なる方法は当技術分野の当業者に明らかであろう。加えて、種々の合成工程を、代替の順番又は順序で実行して、所望の化合物を得ることができる。本明細書に記載のRNAiコンストラクトの合成において有用な他の合成化学転換、保護基（例えば、塩基に存在するヒドロキシル、アミノなどのための）及び保護基の手法（保護及び脱保護）は、当技術分野で知られており、例えばR. Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, VCH Publishers (1989); T. W. Greene and P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2d. Ed., John Wiley and Sons (1991); L. Fieser and M. Fieser, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1994); 及びL. Paquette, ed., *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1995)、並びにそれらの後続版に記載されるものが挙げられる。RNAiコンストラクトのカスタム合成も、Dharmacon, Inc. (Lafayette, CO)、Axo Labs GmbH (Kulmbach, Germany) 及びAmbion, Inc. (Foster City, CA) を含むいくつかの商業的ベンダーから入手可能である。

10

【0065】

本発明のRNAiコンストラクトは、リガンドを含み得る。本明細書で使用する場合、「リガンド」は、別の化合物又は分子と直接的又は間接的に相互作用することができる任意の化合物又は分子を指す。別の化合物又は分子とリガンドとの相互作用は、生物学的応答を誘発し得るか（例えば、シグナル伝達カスケードを惹起する、受容体媒介性のエンドサイトーシスを誘導する）、又はまさに物理的会合であり得る。リガンドは、結合する二本鎖RNA分子の1つ以上の特性、例えばRNA分子の薬力学、薬物動態、結合、吸収、細胞分布、細胞内取り込み、電荷及び／又はクリアランス特性を修飾することができる。

20

【0066】

リガンドは、血清タンパク質（例えば、ヒト血清アルブミン、低密度リポタンパク質、グロブリン）、コレステロール部分、ビタミン（例えば、ビオチン、ビタミンE、ビタミンB12）、葉酸部分、ステロイド、胆汁酸（例えば、コール酸）、脂肪酸（例えば、パルミチン酸、ミリスチン酸）、炭水化物（例えば、デキストラン、プルラン、キチン、キトサン、イヌリン、シクロデキストリン若しくはヒアルロン酸）、グリコシド、リン脂質又は抗体若しくはその結合断片（例えば、肝細胞などの特定の細胞型に対するRNAiコンストラクトを標的化する全抗体若しくは結合断片）を含み得る。リガンドの他の例としては、染料、挿入剤（例えば、アクリジン）、架橋剤（例えば、プソラレン、マイトマイシンC）、ポルフィリン（例えば、TPPC4、テキサフィリン、サフィリン）、多環芳香族炭化水素（例えば、フェナジン、ジヒドロフェナジン）、人工エンドヌクレアーゼ（例えば、EDTA）、親油性分子（例えば、アダマンタン酢酸、1-ピレン酪酸、ジヒドロテストステロン、1,3-ビスO（ヘキサデシル）グリセロール、ゲラニルオキシヘキサシル基、ヘキサデシルグリセロール、ボルネオール、メントール、1,3-プロパンジオール、ヘプタデシル基、O3-（オレオイル）リトコール酸、O3-（オレオイル）コレン酸、ジメトキシトリチル又はフェノキサジン）、ペプチド（例えば、アンテナペディアペプチド、Tatペプチド、RGDペプチド）、アルキル化剤、ポリマー、例えばポリエチレングリコール（PEG）（例えば、PEG-40K）、ポリアミノ酸及びポリアミン（例えば、スペルミン、スペルミジン）が挙げられる。

30

40

【0067】

特定の実施形態では、リガンドは、エンドソーム不安定化特性を有する。エンドソーム不安定化リガンドは、エンドソームの溶解及び／又は本発明のRNAiコンストラクト若しくはその構成要素のエンドソームから細胞の細胞質への輸送を促進する。エンドソーム不安定化リガンドは、pH依存性膜活性及び膜融合性を示すポリカチオンペプチド又はペ

50

プチド模倣体であり得る。一実施形態では、エンドソーム不安定化リガンドは、エンドソームのpHでその活性型コンフォメーションを取る。「活性型」コンフォメーションは、エンドソーム不安定化リガンドが、エンドソームの溶解及び／又は本発明のRNAiコンストラクト若しくはその構成要素のエンドソームから細胞の細胞質への輸送を促進するコンフォメーションである。例示的なエンドソーム不安定化リガンドとしては、GALAペプチド (Subbarao et al., Biochemistry, Vol. 26: 2964-2972, 1987)、EALAペプチド (Vogel et al., J. Am. Chem. Soc., Vol. 118: 1581-1586, 1996) 及びこれらの誘導体 (Turk et al., Biochem. Biophys. Acta, Vol. 1559: 56-68, 2002) が挙げられる。一実施形態では、エンドソーム溶解構成要素は、pHの変化に応答して電荷又はプロトン化の変化を起こすことになる化学基 (例えば、アミノ酸) を含有し得る。エンドソーム不安定化構成要素は、直鎖状又は分枝状であり得る。

10

20

30

40

50

【0068】

いくつかの実施形態では、リガンドは、脂質又は他の疎水性分子を含む。一実施形態では、リガンドは、コレステロール部分又は他のステロイドを含む。コレステロールコンジュゲート型オリゴヌクレオチドは、その非コンジュゲート型対応物よりも活性であると報告されている (Manoharan, Antisense Nucleic Acid Drug Development, Vol. 12: 103-228, 2002)。核酸分子へのコンジュゲーションのためのコレステロール部分及び他の脂質を含むリガンドは、米国特許第7,851,615号明細書；米国特許第7,745,608号明細書；及び米国特許第7,833,992号明細書にも記載されている。別の実施形態において、リガンドは、葉酸部分を含み得る。葉酸部分にコンジュゲートしているポリヌクレオチドは、受容体依存性エンドサイトーシス経路を介して細胞に取り込まれ得る。そのような葉酸-ポリヌクレオチドコンジュゲートは、例えば、米国特許第8,188,247号明細書に記載されている。

【0069】

GPAMが肝細胞 (liver cell) (例えば肝細胞 (hepatocyte)) において発現されることを考慮すると、特定の実施形態において、当該肝細胞にRNAiコンストラクトを特異的に送達することが望ましい。いくつかの実施形態では、RNAiコンストラクトは、肝細胞の表面に発現されるタンパク質と結合又は相互作用するリガンドを採用することにより、肝臓に特異的に標的化され得る。例えば、特定の実施形態において、リガンドは、肝細胞上で発現される受容体に特異的に結合する1つ以上の抗原結合タンパク質 (例えば、抗体又はその結合断片 (例えば、Fab、scFv)) を含んでもよい。

【0070】

特定の実施形態では、リガンドは、炭水化物を含む。「炭水化物」は、酸素、窒素、又は硫黄原子が各炭素原子に結合されている少なくとも6つの炭素原子を有する1つ以上の単糖単位 (直鎖状、分岐鎖状、又は環状であり得る) で構成される化合物を指す。炭水化物として、糖 (例えば、単糖、二糖、三糖、四糖、及び約4、5、6、7、8、又は9つの単糖単位を含有するオリゴ糖)、並びに多糖、例えば、デンプン、グリコーゲン、セルロース、及び多糖ガムが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、リガンドに組み込まれる炭水化物は、ペントース、ヘキソース又はヘプトースから選択される単糖並びにこのような単糖単位を含む二糖及び三糖である。他の実施形態では、リガンドに組み込まれている炭水化物は、アミノ糖であり、例えば、ガラクトサミン、グルコサミン、N-アセチルガラクトサミン及びN-アセチルグルコサミンである。

【0071】

いくつかの実施形態では、リガンドは、ヘキソース又はヘキソサミンを含む。ヘキソースは、グルコース、ガラクトース、マンノース、フコース又はフルクトースから選択され得る。ヘキソサミンは、フルクトサミン、ガラクトサミン、グルコサミン又はマンノサミ

ンから選択され得る。特定の実施形態では、リガンドは、グルコース、ガラクトース、ガラクトサミン又はグルコサミンを含む。一実施形態では、リガンドは、グルコース、グルコサミン又はN-アセチルグルコサミンを含む。別の実施形態では、リガンドは、ガラクトース、ガラクトサミン又はN-アセチルガラクトサミンを含む。特定の実施形態では、リガンドは、N-アセチルガラクトサミンを含む。グルコース、ガラクトース及びN-アセチルガラクトサミン (GalNAc) を含むリガンドは、化合物を肝細胞（例えば、D'Souza and Devarajan, J. Control Release, Vol. 203: 126-139, 2015）に標的化するのに特に有効である。本発明のRNAiコンストラクトに組み込むことができるGalNAc又はガラクトース含有リガンドの例は、米国特許第7,491,805号明細書；同第8,106,022号明細書；及び同第8,877,917号明細書；米国特許出願公開第2003/0130186号明細書；並びに国際公開第2013/166155号パンフレットに記載されている。

10

20

30

40

50

【0072】

特定の実施形態では、リガンドは、多価炭水化物部分を含む。本明細書中で用いられる「多価炭水化物部分」は、他の分子と独立して結合又は相互作用することができる2つ以上の炭水化物単位を含む部分を指す。例えば、多価炭水化物部分は、2つ以上の異なる分子、又は同じ分子上の2つ以上の異なる部位に結合することができる、炭水化物で構成される2つ以上の結合ドメインを含む。炭水化物部分の価数は、炭水化物部分内の個々の結合ドメインの数を示す。例えば、炭水化物部分に関する用語「一価」、「二価」、「三価」、及び「四価」は、それぞれ1、2、3、及び4つの結合ドメインを有する炭水化物部分を指す。多価炭水化物部分は、多価ラクトース部分、多価ガラクトース部分、多価グルコース部分、多価N-アセチルガラクトサミン部分、多価N-アセチルグルコサミン部分、多価マンノース部分、又は多価フコース部分を含み得る。いくつかの実施形態では、リガンドは、多価ガラクトース部分を含む。他の実施形態では、リガンドは、多価N-アセチルガラクトサミン部分を含む。これら及び他の実施形態では、多価炭水化物部分は、二価、三価、又は四価である。そのような実施形態において、多価炭水化物部分は、二分岐又は三分岐であり得る。特定の一実施形態において、多価N-アセチルガラクトサミン部分は、三価又は四価である。別の特定の実施形態において、多価ガラクトース部分は、三価又は四価である。本発明のRNAiコンストラクト中への組み込みのための例示的な三価又は四価のGalNAc含有リガンドを、以下に詳述する。

【0073】

リガンドは、RNAiコンストラクトのRNA分子に直接的又は間接的に結合又はコンジュゲートされ得る。例えば、いくつかの実施形態では、リガンドは、RNAiコンストラクトのセンス鎖又はアンチセンス鎖に共有結合的に直接結合される。他の実施形態では、リガンドは、RNAiコンストラクトのセンス鎖又はアンチセンス鎖にリンカーを介して共有結合的に結合される。リガンドは、本発明のRNAiコンストラクトのポリヌクレオチド（例えば、センス鎖又はアンチセンス鎖）の核酸塩基、糖部分又はヌクレオチド間結合に結合され得る。プリン核酸塩基又はその誘導体へのコンジュゲーション又は結合は、環内原子及び環外原子が挙げられるあらゆる位置にて起こり得る。特定の実施形態では、プリン核酸塩基の2位、6位、7位又は8位がリガンドに結合される。また、ピリミジン核酸塩基又はその誘導体へのコンジュゲーション又は結合は、あらゆる位置にて起こり得る。いくつかの実施形態では、ピリミジン核酸塩基の2位、5位及び6位がリガンドに結合され得る。ヌクレオチドの糖部分へのコンジュゲーション又は結合は、あらゆる炭素原子にて起こり得る。リガンドに結合され得る糖部分の例示的な炭素原子としては、2'、3'及び5'の炭素原子が挙げられる。塩基性残基等において、1'位もまた、リガンドに結合されてよい。ヌクレオチド間結合もリガンドの結合を支援することができる。リン含有結合（例えば、ホスホジエステル、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホロアミダートなど）の場合、リガンドは、リン原子に直接結合することができるか、又はリン原子に結合しているO原子、N原子若しくはS原子に結合することができる。ア

ミン含有ヌクレオシド間結合又はアミド含有ヌクレオシド間結合（例えば、PNA）では、リガンドは、アミン若しくはアミドの窒素原子又は隣接する炭素原子に結合することができる。

【0074】

特定の実施形態では、リガンドは、センス鎖又はアンチセンス鎖のいずれかの3'又は5'末端に結合され得る。特定の実施形態では、リガンドは、センス鎖の5'末端に共有結合的に結合される。他の実施形態では、リガンドは、センス鎖の3'末端に共有結合的に結合される。例えば、いくつかの実施形態では、リガンドは、センス鎖の3'末端ヌクレオチドに結合される。このような特定の実施形態では、リガンドは、センス鎖の3'末端ヌクレオチドの3'位で結合される。代替的な実施形態では、リガンドは、センス鎖の3'末端近傍であるが、1つ以上の末端ヌクレオチドの前（すなわち1、2、3又は4つの末端ヌクレオチドの前）に結合される。いくつかの実施形態では、リガンドは、センス鎖の3'末端ヌクレオチドの糖の2'位で結合される。

10

【0075】

特定の実施形態では、リガンドは、リンカーを介してセンス鎖又はアンチセンス鎖に結合される。「リンカー」は、リガンドをRNA iコンストラクトのポリヌクレオチド構成要素に共有結合的に結合する原子又は原子の基である。リンカーは、約1～約30原子長、約2～約28原子長、約3～約26原子長、約4～約24原子長、約6～約20原子長、約7～約20原子長、約8～約20原子長、約8～約18原子長、約10～約18原子長、及び約12～約18原子長であり得る。いくつかの実施形態において、リンカーは、2つの官能基を有するアルキル部分を一般に含む、二官能性結合部分を含み得る。官能基の一方は、目的の化合物（例えば、RNA iコンストラクトのセンス鎖又はアンチセンス鎖）に結合するように選択され、他方は、本明細書に記載されるようなリガンドなどの任意の選択された基に実質的に結合するように選択される。特定の実施形態において、リンカーは、エチレングリコール単位又はアミノ酸単位等の反復単位からなる鎖構造又はオリゴマーを含む。二官能性結合部分に典型的に使用される官能基の例として、求核性基と反応させるための求電子剤、及び求電子性基と反応させるための求核剤が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、二官能性結合部分として、アミノ、ヒドロキシル、カルボン酸、チオール、不飽和（例えば、二重結合又は三重結合）等が挙げられる。

20

30

【0076】

リガンドを本発明のRNA iコンストラクトのセンス鎖又はアンチセンス鎖に結合するために使用することのできるリンカーは、ピロリジン、8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸、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-カルボキシラート、6-アミノヘキサン酸、置換C₁-C₁₀アルキル、置換若しくは非置換C₂-C₁₀アルケニル又は置換若しくは非置換C₂-C₁₀アルキニルを含むが、これらに限定されない。そのようなリンカーにとって好ましい置換基として、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、及びアルキニルが挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0077】

特定の実施形態では、リンカーは、切断可能である。切断可能リンカーは、細胞外部で十分に安定であるが、標的細胞内への進入後に切断されて、リンカーが一体に保持している2つの部分を放出するものである。いくつかの実施形態では、切断可能なリンカーは、標的細胞中又は第1の参照条件（例えば、細胞内条件を模倣するか、又はそれに相当するように選択され得る）下において、対象の血液中又は第2の参照条件（例えば、血液若しくは血清に見出される条件を模倣するか、又はそれに相当するように選択され得る）下よりも少なくとも10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍若しくは90倍以上又は少なくとも100倍速く切断される。

【0078】

50

切断可能なリンカーは、切断剤、例えば pH、酸化還元電位又は分解性分子の存在に対して感受性である。一般に、切断剤は、血清又は血液中よりも細胞内部で優勢であるか、又は高いレベル若しくは活性で見出される。このような分解性薬剤の例としては、例えば、細胞内に存在し、還元によって酸化還元切断可能リンカーを分解することができるメルカプタンなどの酸化酵素若しくは還元酵素又は還元剤を含む、特定の基質のために選択されるか、又は基質特異性のない酸化還元剤；エステラーゼ；エンドソーム又は酸性環境を生成することができる薬剤、例えば、5 以下の pH をもたらすもの；一般的な酸として作用することによって酸切断可能リンカーを加水分解又は分解することができる酵素、ペプチダーゼ（基質特異的であり得る）及びホスファターゼが挙げられる。

【0079】

10

切断可能リンカーは、pH に感受性のある部分を含み得る。ヒト血清の pH は 7.4 であるが、平均的な細胞内 pH は、わずかにより低く、約 7.1～7.3 の範囲である。エンドソームは、5.5～6.0 の範囲のより酸性の pH を有し、リソソームは、およそ 5.0 の更により酸性の pH を有する。いくつかのリンカーは、好ましい pH で切断され、それによってリガンドから細胞内部又は細胞の所望の区画に RNA 分子を放出する切断可能な基を有する。

【0080】

リンカーは、特定の酵素によって切断可能となる切断可能な基を含み得る。リンカーに組み込まれる切断可能な基の種類は、標的化される細胞に依存し得る。例えば、肝臓標的化リガンドは、エステル基を含むリンカーを介して RNA 分子に結合され得る。肝細胞はエステラーゼに富んでおり、従って、リンカーは、エステラーゼに富んでいない細胞型よりも肝細胞において効率的に切断されることとなる。エステラーゼに富む他の種類の細胞としては、肺、腎皮質及び精巣の細胞が挙げられる。肝細胞及び滑膜細胞などのペプチダーゼに富む細胞を標的化する場合、ペプチド結合を含有するリンカーを用いることができる。

20

【0081】

一般に、切断可能リンカー候補の適合性は、リンカー候補を切断する分解性薬剤の能力（又は条件）を試験することによって評価することができる。また、血液中又は他の非標的組織と接触する場合の切断に抵抗する能力について、切断可能なリンカー候補を試験することが望ましい。従って標的細胞内で切断を示すように選択される第 1 の条件と、他の組織又は体液、例えば血液又は血清内で切断を示すように選択される第 2 の条件との間で切断に対する相対的感受性を判断することができる。評価は、無細胞系、細胞、細胞培養物、臓器若しくは組織培養物中において又は動物全体で実行することができる。無細胞又は培養条件で初期評価を行い、更に動物全体で評価することによって確認することが有用であり得る。いくつかの実施形態では、有用なリンカー候補は、細胞において（又は細胞内条件を模倣するように選択されたインビトロ条件下で）、血液又は血清（又は細胞外条件を模倣するように選択されたインビトロ条件下）と比較して少なくとも 2 倍、4 倍、10 倍、20 倍、50 倍、70 倍又は 100 倍速く切断される。

30

【0082】

他の実施形態では、酸化還元切断可能なリンカーが利用される。酸化還元切断可能リンカーは、還元又は酸化されると切断される。還元的に切断可能な基の一例は、ジスルフィド連結基（-S-S-）である。切断可能なリンカー候補が、好適な「還元的に切断可能なリンカー」であるかどうか、又は例えば特定の RNA i コンストラクト及び特定のリガンドと共に使用するのに好適であるかどうかを判定するために、本明細書に記載の 1 つ以上の方法を使用することができる。例えば、ジチオスレイトール（DTT）又は例えば標的細胞などの細胞中で観察されるであろう切断速度を模倣する当技術分野で知られる他の還元剤と共にインキュベーションすることにより、リンカー候補を評価することができる。リンカー候補は、血液条件又は血清条件を模倣するように選択された条件下で評価することもできる。特定の実施形態では、リンカー候補は、血液中最大 10% 切断される。他の実施形態では、有用なリンカー候補は、細胞（又は細胞内条件を模倣するように選択

40

50

されたインビトロ条件下)において、血液(又は細胞外条件を模倣するように選択されたインビトロ条件下)と比較して少なくとも2倍、4倍、10倍、20倍、50倍、70倍、又は100倍速く分解される。

【0083】

さらに他の実施形態では、ホスフェート系の切断可能リンカーは、ホスフェート基を分解又は加水分解する薬剤によって切断される。細胞内でホスフェート基を加水分解する薬剤の例としては、細胞内のホスファターゼなどの酵素がある。ホスフェート系の切断可能な基の例は、 $-O-P(O)(OR_k)-O-$ 、 $-O-P(S)(OR_k)-O-$ 、 $-O-P(S)(SR_k)-O-$ 、 $-S-P(O)(OR_k)-O-$ 、 $-O-P(O)(OR_k)-S-$ 、 $-S-P(O)(OR_k)-S-$ 、 $-O-P(S)(OR_k)-S-$ 、 $-S-P(S)(OR_k)-O-$ 、 $-O-P(O)(R_k)-O-$ 、 $-O-P(S)(R_k)-O-$ 、 $-S-P(O)(R_k)-O-$ 、 $-S-P(S)(R_k)-O-$ 、 $-S-P(O)(R_k)-S-$ 、 $-O-P(S)(R_k)-S-$ である。特定の実施形態としては、 $-O-P(O)(OH)-O-$ 、 $-O-P(S)(OH)-O-$ 、 $-O-P(S)(SH)-O-$ 、 $-S-P(O)(OH)-O-$ 、 $-O-P(O)(OH)-S-$ 、 $-S-P(O)(OH)-S-$ 、 $-O-P(S)(OH)-S-$ 、 $-SP(S)(OH)-O-$ 、 $-O-P(O)(H)-O-$ 、 $-O-P(S)(H)-O-$ 、 $-S-P(O)(H)-O-$ 、 $-S-P(S)(H)-O-$ 、 $-S-P(O)(H)-S-$ 、 $-O-P(S)(H)-S-$ が挙げられる。別の特定の実施形態は、 $-O-P(O)(OH)-O-$ である。これらのリンカー候補は、上記に記載されるものに類似する方法を用いて評価することができる。

10

20

【0084】

他の実施形態では、リンカーは、酸性条件下で切断される基である、酸切断可能な基を含み得る。いくつかの実施形態では、酸切断可能な基は、pH約6.5以下(例えば、約6.0、5.5、5.0又はそれを下回る)の酸性環境において又は一般酸として作用し得る酵素などの薬剤によって切断される。細胞内では、エンドソーム及びリソソームなどの特定の低pHオルガネラが、酸切断可能な基に切断環境を提供することができる。酸切断可能な結合基の例としては、ヒドラゾン、エステル及びアミノ酸のエステルが挙げられるが、これらに限定されない。酸切断可能な基は、一般式 $-C=NN-$ 、 $C(O)O$ 又は $-OC(O)$ を有し得る。特定の実施形態は、エステルの酸素に結合された炭素(アルコキシ基)が、アリール基、置換アルキル基又は三級アルキル基、例えばジメチル、ペンチル又はセブチルである場合である。これらの候補は、上に記載されているものに類似した方法を用いて評価することができる。

30

【0085】

他の実施形態では、リンカーは、細胞中のエステラーゼ及びアミダーゼなどの酵素によって切断されるエステル系の切断可能な基を含み得る。エステル系の切断可能な基の例としては、アルキレン、アルケニレン及びアルキニレン基のエステルが挙げられるが、これらに限定されない。エステルの切断可能な基は、一般式 $-C(O)O-$ 又は $-OC(O)-$ を有する。これらのリンカー候補は、上記に記載されるものに類似する方法を用いて評価することができる。

40

【0086】

更なる実施形態では、リンカーは、細胞中のペプチダーゼ及びプロテアーゼなどの酵素によって切断されるペプチド系の切断可能な基を含み得る。ペプチド系の切断可能な基は、オリゴペプチド(例えば、ジペプチド、トリペプチドなど)及びポリペプチドを生じるような、アミノ酸間で形成されたペプチド結合である。ペプチド系の切断可能な基は、アミド基($-C(O)NH-$)を含まない。アミド基は、あらゆるアルキレン、アルケニレン又はアルキニレン間で形成され得る。ペプチド結合は、ペプチド及びタンパク質を生じるような、アミノ酸間で形成される特殊なタイプのアミド結合である。ペプチド系の切断基は、一般に、アミノ酸間で形成されてペプチド及びタンパク質を生じるペプチド結合(すなわちアミド結合)に限定され、アミド官能基全体を含むわけではない。ペプチド系の

50

切断可能な連結基は、一般式 $\text{—NHCHRAC(O)NHCHRBC(O)—}$ を有し、式中、RA 及び RB は、2つの隣接するアミノ酸の R 基である。これらの候補は、上に記載されているものに類似した方法を用いて評価することができる。

【0087】

本明細書に記載の RNA i コンストラクト中のセンス鎖又はアンチセンス鎖にリガンドを結合させるのに適した他の種類のリンカーは当技術分野で公知であり、例えば米国特許第 7, 723, 509 号明細書；同第 8, 017, 762 号明細書；同第 8, 828, 956 号明細書；同第 8, 877, 917 号明細書；及び同第 9, 181, 551 号明細書に記載のリンカーを含むことができる。

【0088】

特定の実施形態では、本発明の RNA i コンストラクトのセンス鎖又はアンチセンス鎖に共有結合的に結合されるリガンドは、GalNAc 部分、例えば多価の GalNAc 部分を含む。いくつかの実施形態では、多価の GalNAc 部分は、三価の GalNAc 部分であり、且つセンス鎖の 3' 末端に結合される。他の実施形態では、多価の GalNAc 部分は、三価の GalNAc 部分であり、且つセンス鎖の 5' 末端に結合される。さらに他の実施形態では、多価の GalNAc 部分は、四価の GalNAc 部分であり、且つセンス鎖の 3' 末端に結合される。さらに他の実施形態では、多価の GalNAc 部分は、四価の GalNAc 部分であり、且つセンス鎖の 5' 末端に結合される。

【0089】

いくつかの実施形態では、本発明の RNA i コンストラクトは、RNA i コンストラクトの細胞内発現をコードし、且つ制御するベクターを投与することにより、目的の細胞又は組織に送達され得る。「ベクター」（本明細書では「発現ベクター」とも称される）は、目的の核酸を細胞の内部に送達するために使用することができる物質の組成物である。多数のベクターが当技術分野で知られており、線状ポリヌクレオチド、イオン性又は両親媒性化合物と結合したポリヌクレオチド、プラスミド及びウイルスが挙げられるが、これらに限定されない。従って、用語「ベクター」は、自律的に複製するプラスミド又はウイルスを含む。ウイルスベクターの例としては、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター及びレトロウイルスベクターなどが挙げられるが、これらに限定されない。ベクターは、生細胞内で複製されてもよいし、合成的に作製されてもよい。

【0090】

一般に、本発明の RNA i コンストラクトを発現するためのベクターは、RNA i コンストラクトをコードする配列に作動可能に連結された 1 つ以上のプロモーターを含むことになる。「作動可能に連結された」、「作動可能に連結された」又は「転写制御下で」という語句は、RNA ポリメラーゼによる転写の開始及びポリヌクレオチド配列の発現を制御するために、プロモーターがポリヌクレオチド配列に対して正しい位置及び向きにあるときを示すために、本明細書では互換的に使用され得る。「プロモーター」は、細胞の合成装置によって認識されるか又は合成装置に導入され、特定の遺伝子配列の転写を開始するのに必要とされる配列を指す。適切なプロモーターとしては、RNA pol I、pol II、H1、又は U6 RNA pol III、及びウイルスプロモーター（例えば、ヒトサイトメガロウイルス（CMV）最初期遺伝子プロモーター、SV40 初期プロモーター、及びラウス肉腫ウイルスの長い末端反復）が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、H1 又は U6 RNA pol III プロモーターが使用される。プロモーターは、組織特異的プロモーター又は誘導性プロモーターであり得る。特に注目するのは、ヒト $\alpha 1$ -アンチトリプシン遺伝子、アルブミン遺伝子、ヘモペキシン遺伝子、及び肝性リパーゼ遺伝子由来のプロモーター配列等の肝臓特異的プロモーターである。誘導性プロモーターとしては、例えばエクジソン、エストロゲン、プロゲステロン、テトラサイクリン、及びイソプロピル-PD1-チオガラクトピラノシド（IPTG）によって調節されるプロモーターが挙げられる。

【0091】

RNA i コンストラクトが siRNA を含む場合、別々の 2 つの鎖（センス鎖及びアン

10

20

30

40

50

チセンス鎖)を、単一のベクターか、又は別々の2つのベクターから発現させることができる。例えば、いくつかの実施形態では、センス鎖をコードする配列は、第1のベクターのプロモーターに作動可能に連結され、アンチセンス鎖をコードする配列は、第2のベクターのプロモーターに作動可能に連結される。このような実施形態では、第1及び第2のベクターは、例えば、感染又はトランスフェクションによって標的細胞に同時に導入され、その結果、センス鎖及びアンチセンス鎖が転写されると、細胞内でハイブリダイズして s i R N A 分子を形成することになる。別の実施形態では、センス鎖及びアンチセンス鎖は、単一のベクター内に位置する2つの別個のプロモーターから転写される。このような実施形態では、センス鎖をコードする配列は、第1のプロモーターに作動可能に連結され、アンチセンス鎖をコードする配列は、第2のプロモーターに作動可能に連結されてもよく、第1及び第2のプロモーターは、単一のベクター内に配置されてもよい。一実施形態では、ベクターは、s i R N A 分子をコードする配列に作動可能に連結される第1のプロモーターと、同じ配列に逆方向で作動可能に連結される第2のプロモーターとを含み、その結果、第1のプロモーターからの配列の転写が s i R N A 分子のセンス鎖の合成をもたらし、第2のプロモーターからの配列の転写が s i R N A 分子のアンチセンス鎖の合成をもたらす。

10

【0092】

R N A i コンストラクトが s h R N A を含む場合、単一の少なくとも部分的に自己相補的 R N A 分子をコードする配列が、単一の転写物を生成するプロモーターに作動可能に連結される。いくつかの実施形態では、s h R N A をコードする配列は、リンカーポリヌクレオチド配列によって結合される逆方向反復を含み、転写後に s h R N A のステム及びループ構造を生成する。

20

【0093】

いくつかの実施形態では、本発明の R N A i コンストラクトをコードするベクターは、ウイルスベクターである。本明細書に記載の R N A i コンストラクトを発現するのに好適な様々なウイルスベクター系は、アデノウイルスベクター、レトロウイルスベクター（例えば、レンチウイルスベクター、マロニー (maloney) マウス白血病ウイルス)、アデノ随伴ウイルスベクター；単純ヘルペスウイルスベクター；S V 4 0 ベクター；ポリオマウイルスベクター；パピローマウイルスベクター；ピコルナウイルスベクター；及びボックスウイルスベクター（例えば、ワクシニアウイルス）を含むが、これらに限定されない。特定の実施形態では、ウイルスベクターは、レトロウイルスベクター（例えば、レンチウイルスベクター）である。

30

【0094】

本発明での使用に適した様々なベクター、s i R N A 又は s h R N A 分子をコードする核酸配列をベクターに挿入する方法、及びベクターを目的の細胞に送達する方法は、当技術分野で公知である（例えば、Dornburg, Gene Therap., Vol. 2: 301-310, 1995; Egli et al., Biotechniques, Vol. 6: 608-614, 1988; Miller, HumGene Therap., Vol. 1: 5-14, 1990; Anderson, Nature, Vol. 392: 25-30, 1998; Robinson D A et al., Nat. Genet., Vol. 33: 401-406, 2003; Brummelkamp et al., Science, Vol. 296: 550-553, 2002; Brummelkamp et al., Cancer Cell, Vol. 2: 243-247, 2002; Lee et al., Nat Biotechnol, Vol. 20: 500-505, 2002; Miyagishi et al., Nat Biotechnol, Vol. 20: 497-500, 2002; Paddison et al., Genes Dev, Vol. 16: 948-958, 2002; Paul et al., Nat Biotechnol, Vol. 20: 505-508, 2002; Sui et al., Proc Natl Acad Sci USA, Vol. 99: 5515-5520, 2002 及び Yu et al., Proc Natl Acad Sci USA,

40

50

V o l . 9 9 : 6 0 4 7 - 6 0 5 2 , 2 0 0 2 を参照されたい)。

【0095】

組成物

本開示はまた、本明細書に記載のRNAiコンストラクトと、薬学的に許容される担体、賦形剤、又は希釈剤を含む組成物及び製剤を提供する。そのような組成物及び製剤は、それを必要とする対象において、GPAMの発現を低下させるのに有用である。臨床上の用途が想定される場合、医薬組成物及び製剤は、目的の用途に適切な形態で調製される。一般に、このことは、パイロジェンだけでなく、ヒト又は動物に有害となる虞のある他の不純物も本質的にない組成物の調製を伴うこととなる。

【0096】

語句「薬学的に許容される」又は「薬理学的に許容される」は、動物又はヒトに投与される場合の有害な、アレルギー性の、又は他の不都合な反応をもたらさない分子実体及び組成物を指す。本明細書中で用いられる「薬学的に許容される担体、賦形剤、又は希釈剤」として、ヒトへの投与に適した医薬等の医薬の製剤化における使用に許容される溶媒、バッファ、溶液、分散媒体、コーティング、抗菌剤及び抗真菌剤、等張化剤、並びに吸収遅延剤等が挙げられる。薬学的に活性な物質に対するそのような媒体及び薬剤の使用は、当技術分野において周知である。従来のあるあらゆる媒体又は薬剤が、本発明のRNAiコンストラクトと適合しない場合を除いて、治療組成物に使用されることが意図される。補助的な活性成分もまた、それらが組成物のベクター又はRNAiコンストラクトを不活化しないことを条件として、組成物中に組み込まれ得る。

【0097】

医薬組成物の製剤化のための組成物及び方法は、投与経路、処置されることとなる疾患若しくは障害の種類及び程度、又は投与されることとなる用量が挙げられるがこれらに限定されない、いくつかの基準に依存する。いくつかの実施形態において、医薬組成物は、意図される送達経路に基づいて製剤化される。例えば、特定の実施形態において、医薬組成物は、非経口送達用に製剤化される。非経口の送達形態として、静脈内、動脈内、皮下、髄腔内、腹腔内、及び筋肉内の注射又は注入が挙げられる。一実施形態において、医薬組成物は、静脈内送達用に製剤化される。そのような実施形態において、医薬組成物は、脂質ベースの送達ビヒクルを含んでよい。別の実施形態では、医薬組成物は皮下送達用に製剤化される。このような実施形態では、医薬組成物は、標的化リガンド（例えば、本明細書に記載のGalNAc含有リガンド）を含み得る。

【0098】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、有効量の本明細書に記載されるRNAiコンストラクトを含む。「有効量」は、有利な又は所望の臨床結果をもたらすのに十分な量である。いくつかの実施形態において、有効量は、対象の肝細胞内でGPAM発現を低下させるのに十分な量である。いくつかの実施形態において、有効量は、GPAM発現を、例えばヒトヘテロ接合体における野生型GPAM対立遺伝子の発現に匹敵するレベルにまで部分的にのみ低下させるのに十分な量であり得る。機能欠損型のGPAMバリエーションのヘテロ接合性ヒト保因者は、非保因者と比べて非HDLコレステロールの血清レベルが低く、且つ冠動脈疾患及び心筋梗塞のリスクが低いと報告された(Nioi et al., New England Journal of Medicine, Vol. 374 (22): 2131-2141, 2016)。従って、理論に束縛されることなく、GPAM発現の部分的な低下は、有利な血清非HDLコレステロールの低減並びに冠動脈疾患及び心筋梗塞のリスクの低減を実現するのに十分であり得ると考えられる。

【0099】

本発明のRNAiコンストラクトの有効量は、約0.01mg/kg体重～約100mg/kg体重、約0.05mg/kg体重～約75mg/kg体重、約0.1mg/kg体重～約50mg/kg体重、約1mg/kg～約30mg/kg体重、約2.5mg/kg体重～約20mg/kg体重、又は約5mg/kg体重～約15mg/kg体重であり得る。特定の実施形態では、本発明のRNAiコンストラクトの単回の有効量は、約0

・1 mg/kg、約0.5 mg/kg、約1 mg/kg、約2 mg/kg、約3 mg/kg、約4 mg/kg、約5 mg/kg、約6 mg/kg、約7 mg/kg、約8 mg/kg、約9 mg/kg又は約10 mg/kgであり得る。有効量のRNAiコンストラクトを含む医薬組成物は、毎週、隔週、毎月、四半期毎又は半年毎に投与され得る。有効であると考えられる投与量及び投与頻度を正確に決定することは、患者の大きさ、年齢、性別、処置する障害の種類（例えば、心筋梗塞、心不全、冠動脈疾患、高コレステロール血症）、使用される特定のRNAiコンストラクト並びに投与経路を含むいくつかの要因に基づき得る。本発明の特定のあらゆるRNAiコンストラクトの有効投薬量及びインビボ半減期の推定値は、従来方法及び／又は適切な動物モデルにおける試験を用いて確認することができる。

10

【0100】

水中油型エマルション、ミセル、混合ミセル及びリポソームを含む、高分子複合体、ナノカプセル、マイクロスフェア、ビーズ及び脂質ベースのなどのコロイド分散系を、本発明のRNAiコンストラクト又はそのようなコンストラクトをコードするベクターの送達ビヒクルとして使用してもよい。本発明の核酸の送達に好適な市販の脂肪エマルションとしては、INTRALIPID（登録商標）、LIPOSYN（登録商標）、LIPOSYN（登録商標）II、LIPOSYN（登録商標）III、NUTRILIPID及び他の類似の脂肪エマルションが挙げられる。インビボ送達ビヒクルとして用いられる好ましいコロイド系として、リポソーム（すなわち人工膜小胞）がある。本発明のRNAiコンストラクトは、カチオン性リポソームなどのリポソーム内に封入され得る。或いは、本発明のRNAiコンストラクトは、脂質、例えばカチオン性脂質に対して複合体形成され得る。適切な脂質及びリポソームとして、中性（例えば、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン（DOPE）、ジミリストイルホスファチジルコリン（DMPC）、及びジパルミトイルホスファチジルコリン（DPPC））、ジステアロイルホスファチジルコリン）、陰性（例えば、ジミリストイルホスファチジルグリセロール（DMPG））、そしてカチオン性（例えば、ジオレオイルテトラメチルアミノプロピル（DOTAP）及びジオレオイルホスファチジルエタノールアミン（DOTMA））が挙げられる。このようなコロイド分散系の調製及び使用は、当技術分野においてよく知られている。例示的な製剤はまた、例えば、米国特許第5,783,565号明細書；同第5,837,533号明細書；同第5,981,505号明細書；同第6,127,170号明細書；同第6,217,900号明細書；同第6,379,965号明細書；同第6,383,512号明細書；同第6,747,014号明細書；同第7,202,227号明細書；及び国際公開第03/093449号パンフレットに開示されている。

20

30

【0101】

いくつかの実施形態では、本発明のRNAiコンストラクトは、脂質製剤に完全に封入されて、例えばSPLP、pSPLP、SNALP、又は他の核酸-脂質粒子を形成する。本明細書で使用する場合、用語「SNALP」は、SPLPを含む安定な核酸-脂質粒子を指す。本明細書で使用する場合、用語「SPLP」は、脂質小胞に封入されたプラスミドDNAを含む核酸-脂質粒子を指す。SNALP及びSPLPは典型的に、カチオン性脂質、非カチオン性脂質、及び粒子の凝集を妨げる脂質（例えばPEG-脂質コンジュゲート）を含有する。SNALP及びSPLPは、静脈内注射後に長期間の循環寿命を示し、且つ遠位部位（例えば、投与部位から物理的に離れた部位）にて蓄積するため、全身投与に非常に有用である。SPLPは、国際公開第00/03683号パンフレットに記載の封入された縮合剤-核酸複合体を含む「pSPLP」を含む。核酸-脂質粒子は、典型的に、平均直径が約50 nm～約150 nm、約60 nm～約130 nm、約70 nm～約110 nm、又は約70 nm～約90 nmであり、実質的に非毒性である。加えて、核酸-脂質粒子内に存在する核酸は、水溶液中で、ヌクレアーゼによる分解に対して耐性があるのが望ましい。核酸-脂質粒子及びその調製方法は、例えば、米国特許第5,976,567号明細書、米国特許第5,981,501号明細書、米国特許第6,534,484号明細書、米国特許第6,586,410号明細書、米国特許第6,815,43

40

50

2号明細書、及び国際公開第96／40964号パンフレットに開示されている。

【0102】

注射に好適な医薬組成物は、例えば、滅菌水溶液又は分散体及び注射用滅菌溶液又は分散体の即時調製のための滅菌粉末を含む。一般に、これらの調製物は、滅菌済みであり、容易に注射可能である程度の流体である。調製物は、製造及び保存条件下で安定でなければならない。適切な溶媒又は分散媒体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、液体ポリエチレングリコール等）、それらの好適な混合液、及び植物油を含有し得る。適切な流動性は、例えば、コーティング（レシチンなど）を使用することによって、必要な粒径を維持することによって（分散液の場合）、及び／又は界面活性剤を使用することによって維持することができる。微生物の作用の予防は、種々の抗菌剤及び抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸、チメロサル等によってもたらされ得る。多くの場合、等張剤（例えば、糖又は塩化ナトリウム）が組成物に含まれ得る。注射可能な組成物の持続的な吸収は、吸収遅延剤、例えば、モノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンを含めることによってもたらされ得る。

10

【0103】

滅菌注射用溶液は、適切な量のRNAiコンストラクト（単独又はリガンドと複合体化）を、必要に応じて任意の他の成分（上記など）と共に溶媒に組み込み、続いて濾過滅菌することによって調製され得る。一般的に、分散系は、塩基性分散媒体及び所望の他の成分を含有する滅菌ビヒクル中に、滅菌された種々の活性成分を組み込むことによって調製される。滅菌注射溶液の調製用の滅菌粉末の場合、適切な調製方法として、その予め滅菌濾過した溶液から活性成分プラス任意の追加の所望の成分の粉末が得られる、真空乾燥技術及び凍結乾燥技術が挙げられる。

20

【0104】

本明細書で提供される組成物は、中性形態又は塩形態で製剤化され得る。薬学的に許容される塩として、例えば、無機酸（例えば、塩酸又はリン酸）又は有機酸（例えば、酢酸、シュウ酸、酒石酸、マンデル酸等）から誘導される酸付加塩（遊離アミノ基と共に形成される）が挙げられる。また、遊離カルボキシル基と共に形成される塩は、無機塩基（例えば、ナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム、又は水酸化第二鉄）から、又は有機塩基（例えば、イソプロピルアミン、トリメチルアミン、ヒスチジン、プロカイン等）から誘導され得る。

30

【0105】

水溶液中での非経口投与のために、例えば、溶液は一般に適切に緩衝され、液体希釈剤は最初に、例えば、十分な生理食塩水又はグルコースと等張にされる。そのような水溶液は、例えば、静脈内、筋肉内、皮下、及び腹腔内投与に用いられ得る。当技術分野の当業者に知られているように、滅菌水性媒体を使用することが望ましい。実例として、単回用量を等張NaCl溶液1ml中に溶解し、皮下注入液1000mlに添加し得るか、又は提示された注入部位に注射し得る（例えば、“Remington's Pharmaceutical Sciences” 15th Edition, pages 1035-1038 and 1570-1580を参照されたい）。ヒト投与について、調製物は、FDA基準によって要求される無菌性、発熱性、一般的安全性、及び純度の基準を満たさなければならない。特定の実施形態において、本発明の医薬組成物は、滅菌生理食塩水、及び本明細書中に記載されるRNAiコンストラクトを含むか、又はそれらからなる。他の実施形態では、本発明の医薬組成物は、本明細書に記載のRNAiコンストラクト及び滅菌水（例えば、注射用水、WFI）を含むか又はそれらからなる。さらに他の実施形態では、本発明の医薬組成物は、本明細書に記載のRNAiコンストラクト及びリン酸緩衝生理食塩水（PBS）を含むか又はこれらからなる。

40

【0106】

いくつかの実施形態では、本発明の医薬組成物は、投与用デバイスでパッケージ化されるか又はその中に保存される。注射製剤用のデバイスとしては、注射ポート、プレフィル

50

ドシリンジ、自動注入装置、注射ポンプ、装着型注射器、及び注射ペンが挙げられるが、これらに限定されない。エアロゾル化製剤又は粉末製剤用のデバイスとして、インヘラー、通気器、吸引器等が挙げられるが、これらに限定されない。従って、本発明は、本明細書に記載される障害の1つ以上を治療又は予防するための本発明の医薬組成物を含む投与デバイスを含む。

【0107】

G P A M 発現を阻害するための方法

本開示はまた、細胞におけるG P A M 遺伝子の発現を阻害する方法を提供する。本方法は、細胞を、RNA i コンストラクト、例えば、二本鎖RNA i コンストラクトと、細胞内でのG P A M の発現を阻害するのに有効な量で接触させることによって、細胞内でのG P A M の発現を阻害することを含む。細胞をRNA i コンストラクト、例えば二本鎖RNA i コンストラクトと接触させることは、インビトロ又はインビボで行われ得る。細胞をインビボでRNA i コンストラクトと接触させることは、対象、例えばヒト対象内の細胞又は細胞群をRNA i コンストラクトと接触させることを含む。細胞を接触させるインビトロ及びインビボ方法の組合せも本開示の範囲内である。

10

【0108】

本発明は、G P A M の発現の低下又は阻害を必要とする対象において、G P A M の発現を低下させるか又は阻害する方法、及びG P A M 発現又は活性に関連する症状、疾患、又は障害を処置又は予防する方法を提供する。「G P A M 発現に関連する症状、疾患、又は障害」は、G P A M 発現レベルが変わるか、又はG P A M の発現レベルの上昇が、症状、疾患、若しくは障害の発症リスクの増大と関連する症状、疾患、又は障害を指す。

20

【0109】

細胞を接触させることは、上記で考察されるように、直接的であっても、又は間接的であってもよい。さらに、細胞を接触させることは、本明細書に記載されるか、又は当技術分野で知られるあらゆるリガンドを含む標的化リガンドを介して達成してもよい。好ましい実施形態では、標的化リガンドは、炭水化物部分、例えばGa l N A c リガンド、又は実施例1に示されるものなどの三分岐Ga l N A c 構造、又はRNA i コンストラクトを目的の部位に指向させる任意の他のリガンドである。

【0110】

一実施形態では、細胞とRNA i の接触は、細胞への取り込み又は細胞への吸収を促進するか又は引き起こすことによって、「導入すること」又は「細胞にRNA i を送達すること」を含む。RNA i の吸収又は取り込みは、補助なしの拡散性若しくは活性細胞性プロセスによって、又は補助剤若しくはデバイスによって起こすことができる。例えば、インビボでの導入のために、RNA i を組織部位に注射してもよいし、全身投与してもよい。細胞へのインビトロ導入は、エレクトロポレーション及びリポフェクションなどの当技術分野で公知の方法を使用して達成することができる。更なる方法は、本明細書において以下に記載されており、且つ／又は当技術分野において知られている。

30

【0111】

本明細書で使用する場合、用語「阻害する」は、「低下させる」、「サイレンシングする」、「下方制御する」、「抑制する」、及び他の類似用語と互換的に使用され、あらゆるレベルの阻害を含む。

40

【0112】

語句「G P A M の発現を阻害する」は、任意のG P A M 遺伝子（例えば、マウスG P A M 遺伝子、ラットG P A M 遺伝子、サルG P A M 遺伝子、又はヒトG P A M 遺伝子など）及びG P A M 遺伝子のバリエーション又は変異体の発現の阻害を指すものとする。従って、G P A M 遺伝子は、野生型G P A M 遺伝子、変異体G P A M 遺伝子（アミロイド沈着を引き起こす変異体G P A M 遺伝子など）、又は遺伝子操作細胞、細胞群、若しくは生物の文脈におけるトランスジェニックG P A M 遺伝子であってもよい。

【0113】

「G P A M 遺伝子の発現を阻害する」には、G P A M 遺伝子のあらゆるレベルの阻害、

50

例えば G P A M 遺伝子の発現の少なくとも一部の抑制が含まれる。G P A M 遺伝子の発現は、例えば、G P A M mRNA レベル、G P A M タンパク質レベル、又はアミロイド沈着物の数若しくは程度などの G P A M 遺伝子発現に関連する任意の変数のレベル、又はレベルの変化に基づいて評価され得る。このレベルは、例えば、対象に由来する試料を含む個々の細胞又は細胞群において評価され得る。

【0114】

阻害は、対照レベルと比較して、G P A M 発現に関連する 1 つ以上の変数の絶対レベル又は相対レベルの低下によって評価され得る。対照レベルは、例えば、投与前のベースラインレベル、又は治療されていないか若しくは対照（例えば、緩衝液のみの対照又は不活性薬剤対照）で治療された類似対象、細胞、若しくは試料から決定されるレベルなどの当技術分野で利用される任意のタイプの対照レベルであり得る。いくつかの実施形態では、G P A M 遺伝子の発現は、少なくとも約 5 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 15 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 55 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 65 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 91 %、少なくとも約 92 %、少なくとも約 93 %、少なくとも約 94 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 97 %、少なくとも約 98 %、又は少なくとも約 99 % 阻害される。

【0115】

G P A M 遺伝子の発現の阻害は、第 1 の細胞又は細胞群と実質的に同一であるが、同様に処置されていない第 2 の細胞又は細胞群（対照細胞）と比較した場合の、G P A M 遺伝子の発現が阻害されるように、G P A M 遺伝子が転写され、且つ処置された（例えば、細胞を本発明の RNA i コンストラクトと接触させることにより、又はこの細胞が存在する、若しくは存在した対象に本発明の RNA i コンストラクトを投与することにより）第 1 の細胞又は細胞群（このような細胞は、例えば、対象に由来する試料中に存在し得る）により発現される mRNA の量の減少によって明らかにされ得る。阻害は、以下の式を用いて、処置細胞中の mRNA レベルを対照細胞中の mRNA レベルの割合として表すことによって評価し得る。

【数 1】

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

【0116】

或いは、G P A M 遺伝子の発現の阻害は、G P A M 遺伝子発現、例えば、G P A M タンパク質発現又はヘッジホッグ経路タンパク質活性に機能的に関連するパラメーターの低下に関して評価されてもよい。G P A M 遺伝子サイレンシングは、当技術分野で公知の任意のアッセイによって、内因的又は組換え的に G P A M を発現する任意の細胞において決定され得る。

【0117】

G P A M タンパク質の発現の阻害は、細胞又は細胞群によって発現される G P A M タンパク質のレベル（例えば、対象に由来するサンプル内で発現されるタンパク質のレベル）の低下によって明らかにされ得る。上記で説明されるように、mRNA の抑制を評価するために、処置細胞又は細胞群におけるタンパク質発現レベルの阻害は、対照細胞又は細胞群におけるタンパク質のレベルのパーセンテージとして同様に表され得る。

【0118】

G P A M 遺伝子の発現の阻害を評価するのに用いられ得る対照細胞又は細胞群として、本発明の RNA i コンストラクトとまだ接触していない細胞又は細胞群が挙げられる。例

例えば、対照細胞又は対照細胞群は、RNAiコンストラクトによる対象の処置の前に、個々の対象（例えば、ヒト対象又は動物対象）から得てもよい。

【0119】

細胞又は細胞群によって発現されるGPAM mRNAのレベル、又は循環GPAM mRNAのレベルは、mRNA発現を評価するための当技術分野で公知の任意の方法、例えば上記の方法を使用して決定することができる。いくつかの実施形態において、サンプル内でのGPAMの発現のレベルは、例えばGPAM遺伝子のmRNAといった、転写ポリヌクレオチド又はその一部を検出することによって判定される。この点について、例えばRNAは、例えば、酸性フェノール／グアニジンイソチオシアネート抽出（RNAzol B; Biogenesis）、RNeasy RNA調製キット（Qiagen）又はPAXgene（PreAnalytix, Switzerland）の使用を含むRNA抽出技術を用いて、細胞から抽出され得る。リボ核酸ハイブリダイゼーションを利用する典型的なアッセイ形式としては、核ランオンアッセイ、RT-PCR、RNAアーゼ保護アッセイ（Melton et al., Nuc. Acids Res., 12:7035）、ノーザンブロッティング、インサイチュハイブリダイゼーション及びマイクロアレイ分析が挙げられる。循環GPAM mRNAは、国際公開第2012/177906号パンフレットに記載されている方法を使用して検出することができる。

10

【0120】

一実施形態では、GPAMの発現のレベルは、核酸プローブを使用して決定される。用語「プローブ」は、本明細書で使用する場合、特定のGPAM配列に選択的に結合することができる任意の分子を指す。プローブは、当業者によって合成することができるか、又は適切な生物学的調製物から誘導することができる。プローブは、標識するように特別に設計してもよい。プローブとして利用され得る分子の例としては、RNA、DNA、タンパク質、抗体及び有機分子が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0121】

単離mRNAは、サザン又はノーザン分析、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）分析及びプローブアレイを含むが、これらに限定されないハイブリダイゼーション又は増幅アッセイに使用することができる。mRNAレベルの一決定方法は、単離されたmRNAを、GPAM mRNAにハイブリダイズすることができる核酸分子（プローブ）と接触させることを含む。一実施形態では、例えば、アガロースゲル上で単離mRNAを泳動させ、mRNAをゲルからニトロセルロースなどの膜に移すことによって、mRNAを固体表面上に固定化し、プローブと接触させる。代替的な実施形態では、プローブは、例えば、Affymetrix遺伝子チップアレイにおいて、固体表面上に固定化し、mRNAをプローブと接触させる。当業者であれば、既知のmRNA検出法を、GPAM mRNAのレベルの判定での使用に容易に適合させることができる。

30

【0122】

サンプル中のGPAMの発現レベルを決定するための代替方法は、例えばRT-PCR（例えば、米国特許第4,683,202号明細書を参照されたい）、リガーゼ連鎖反応（Barany (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:189-193）、自家持続配列複製法（Guatelli et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1874-1878）、転写増幅系（Kwoh et al. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:1173-1177）、Q-ベータレプリカーゼ（Lizardi et al. (1988) Bio/Technology 6:1197）、ローリングサークル複製（Lizardi et al., 前出；及び米国特許第5,854,033号明細書）又は任意の他の核酸増幅方法を含み、これに続いて、当業者に周知の技術を使用して増幅された分子を検出する。これらの検出スキームは、特に、核酸分子が非常に少ない数で存在するときに、核酸分子を検出するのに有用である。本発明のいくつかの態様では、GPAMの発現レベルは、定量的蛍光発生RT-PCR（すなわち、TAQMAN（商標）システム）によって決定され得る。GPAM mRNAの発現レベルは、メンブレンプロ

40

50

ット（ノーザン、サザン、ドットなどのハイブリダイゼーション分析に使用されているものなど）又はマイクロウェル、サンプルチューブ、ゲル、ビーズ若しくはファイバー（又は結合核酸を含む任意の固体支持体）を使用してモニターされ得る（例えば米国特許第5,445,934号明細書；同第5,677,195号明細書；同第5,770,722号明細書；同第5,744,305号明細書；及び同第5,874,219号明細書参照のこと）。GPAM発現レベルの判定は、溶液中の核酸プローブの使用を含んでもよい。特定の実施形態において、mRNA発現のレベルは、分枝状DNA（bDNA）アッセイ又はリアルタイムPCR（qPCR）を用いて評価される。

【0123】

GPAMタンパク質発現のレベルは、タンパク質レベルの測定のための、当技術分野において知られているあらゆる方法を用いて判定され得る。このような方法としては、例えば、電気泳動、キャピラリー電気泳動、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）、薄層クロマトグラフィー（TLC）、高拡散クロマトグラフィー、液体又はゲル沈降素反応、吸収分光法、比色アッセイ、分光光度アッセイ、フローサイトメトリー、免疫拡散法（一元又は二元）、免疫電気泳動、ウエスタンブロッティング、放射性免疫アッセイ（RIA）、酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）、免疫蛍光アッセイ、電気化学発光アッセイなどが挙げられる。

【0124】

いくつかの実施形態において、本発明の方法の有効性は、四肢、顔、喉頭、上気道、腹部、躯幹、及び性器の浮腫状腫脹、前駆症状；喉頭部浮腫；非掻痒性発疹；吐き気；嘔吐；又は腹痛の低減等のGPAM疾患の病徴の低減を検出又は監視することによって監視することができる。これらの症状は、当技術分野で知られる任意の方法を使用してインビトロ又はインビボで評価され得る。

【0125】

いくつかの態様では、RNAiコンストラクト又はRNAiコンストラクトを含む組成物は、RNAiコンストラクトが対象内の特定の部位に送達されるように対象に投与される。GPAMの発現の阻害は、対象内の特定の部位由来の体液又は組織に由来するサンプル内でのGPAM mRNA又はGPAMタンパク質のレベル又はレベルの変化の測定を用いて評価され得る。いくつかの実施形態では、RNAiコンストラクトは、肝臓、脈絡叢、網膜、及び脾臓などの部位に送達され得る。その部位は、前述の部位のいずれか1つに由来する細胞の小単位又は部分群であってもよい。また、当該部位は、特定の型の受容体を発現する細胞を含んでもよい。

【0126】

GPAM関連疾患を処置又は予防する方法

本発明は、GPAM関連の疾患、障害及び／若しくは状態を有するか、又はGPAM関連の疾患、障害及び／若しくは状態を発症する傾向がある対象、RNAiコンストラクト、RNAiコンストラクトを含む組成物（例えば、医薬組成物）、又は本明細書に記載のRNAiコンストラクトを含むベクターに投与することを含む治療的及び予防的方法を提供する。GPAM関連疾患の非限定的な例として、例えば、脂肪肝（脂肪症）、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、肝硬変、肝臓内での脂肪の蓄積、肝臓の炎症、肝細胞壊死、肝線維症、肥満、及び非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）が挙げられる。一実施形態において、GPAM関連疾患は、NAFLDである。別の実施形態において、GPAM関連疾患は、NASHである。別の実施形態において、GPAM関連疾患は、脂肪肝（脂肪症）である。別の実施形態において、GPAM関連疾患は、インスリン抵抗性である。別の実施形態において、GPAM関連疾患は、インスリン抵抗性ではない。

【0127】

特定の実施形態において、本発明は、GPAMの発現の低下を必要とする患者においてGPAMの発現を低下させる方法であって、本明細書中に記載されるRNAiコンストラクトのいずれかを患者に投与することを含む方法を提供する。本明細書中で用いられる用語「患者」は、ヒトが挙げられる哺乳動物を指し、用語「対象」と互換的に用いられ得る

10

20

30

40

50

。患者の肝細胞内でのG P A Mの発現レベルは、R N A iコンストラクトを受けていない患者のG P A M発現レベルと比較して、R N A iコンストラクトの投与後に低下するのが望ましい。

【0128】

本発明の方法は、G P A M関連疾患を患っている対象、例えば、G P A M遺伝子発現及び／又はG P A Mタンパク質産生の低下から利益を受けることとなる対象を処置するのに有用である。一態様では、本発明は、非アルコール性脂肪性肝疾患（N A F L D）を有する対象におけるグリセロール-3-リン酸アシルトランスフェラーゼ、ミトコンドリア（G P A M）遺伝子発現のレベルを低下させる方法を提供する。別の態様において、本発明は、N A F L Dを患っている対象においてG P A Mタンパク質のレベルを低下させる方法を提供する。また、本発明は、N A F L Dを患っている対象において、ヘッジホッグ経路の活性のレベルを低下させる方法を提供する。

10

【0129】

本発明の処置方法（及び使用）は、対照、例えばヒトに、G P A M遺伝子を標的とする治療有効量の開示されたR N A iコンストラクト、R N A iコンストラクトを含む医薬組成物、又はR N A iコンストラクトを含むベクターを投与することを含む。

【0130】

一態様では、本発明は、例えば、高められたヘッジホッグシグナル伝達経路の存在、疲労、衰弱、減量、食欲不振、吐き気、腹痛、クモ状血管、皮膚及び眼の黄色化（黄疸）、かゆみ、水分蓄積及び脚の腫脹（浮腫）、腹部膨満（腹水）、及び精神錯乱などの、N A F L Dを有する対象の少なくとも1つの症状を予防する方法を提供する。この方法は、予防有効量のR N A iコンストラクト、例えばd s R N A、R N A iコンストラクトを含む医薬組成物、又はR N A iコンストラクトをコードするベクターを対象に投与し、それによってG P A M遺伝子発現の低下から利益を得る障害を有する対象における少なくとも1つの症状を予防することを含む。「予防有効量」は、所望の予防結果（例えば、疾患発症の予防）を達成するために、必要な投与量及び期間で有効な量を指す。

20

【0131】

別の態様において、本発明は、対象、例えば、G P A M遺伝子発現の低下及び／又は阻害から利益を受けることとなる対象を処置するための、治療有効量の本発明のR N A iコンストラクトの使用を提供する。更なる態様において、本発明は、G P A M遺伝子発現の低下から利益を受けることとなる、障害、例えば、G P A M関連疾患を患っている対象等の対象、例えば、G P A M遺伝子発現及び／又はG P A Mタンパク質産生の低下及び／又は阻害から利益を受けることとなる対象を処置するための医薬の製造における、G P A M遺伝子を標的化する本発明のR N A iコンストラクト、例えば、d s R N A、又はG P A M遺伝子を標的化するR N A iコンストラクトを含む医薬組成物の使用を提供する。

30

【0132】

本開示は、G P A M遺伝子発現及び／又はG P A Mタンパク質産生の低下及び／又は阻害から利益を受けることとなる、障害に罹患している対象において少なくとも1つの病徴を予防するための、本発明のR N A iコンストラクト、例えば、d s R N Aの使用を提供する。例えば、本開示は、N A F L Dの処置における、本明細書中に記載のR N A iコンストラクト、それを含む組成物及びそれを含むベクターの使用を提供する。

40

【0133】

更なる態様では、本発明は、G P A M関連疾患などのG P A M遺伝子発現及び／又はG P A Mタンパク質産生の低下及び／又は阻害から利益を得る障害に罹患している対象における少なくとも1つの症状を予防するための医薬品の製造における、開示されるR N A iコンストラクト、それを含む組成物、又はそれを含むベクターの使用を提供する。

【0134】

一実施形態において、G P A Mを標的化するR N A iコンストラクトは、R N A iコンストラクトが対象に投与される場合、例えば、対象の細胞、組織、血液、又は他の組織若しくは体液におけるG P A M遺伝子の発現が、少なくとも約10%、11%、12%、1

50

3 %、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 %、50 %、51 %、52 %、53 %、54 %、55 %、56 %、57 %、58 %、59 %、60 %、61 %、62 %、63 %、64 %、65 %、66 %、67 %、68 %、69 %、70 %、71 %、72 %、73 %、74 %、75 %、76 %、77 %、78 %、79 %、80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は少なくとも約99 %以上低下するように、GPAM関連疾患、例えば、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）を患っている対象に投与される。

10

【0135】

本発明の方法及び使用は、標的GPAM遺伝子の発現が、任意の適切な時間、例えば、約1、2、3、4、5、6、7、8、12、16、18、24、28、32、36、40、44、48、52、56、60、64、68、72、76、又は約80時間低減するように、本明細書に記載の組成物を投与することを含む。一実施形態において、標的GPAM遺伝子の発現は、長期間、例えば、少なくとも約2、3、4、5、6、7日以上、例えば、約1週、2週、3週、又は約4週以上減少する。

【0136】

本発明の方法及び使用に従うRNAiコンストラクトの投与は、GPAM関連疾患、例えば、NAFLDを患っている患者におけるそのような疾患又は障害の重症度、徴候、病徴、及び／又はマーカーの低減をもたらし得る。この文脈における「低減」は、このようなレベルの統計的に有意な低減を意味する。低減は、例えば、少なくとも約5 %、10 %、15 %、20 %、25 %、30 %、35 %、40 %、45 %、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %又は約100 %であり得る。疾患の治療又は予防の有効性は、例えば、疾患進行、疾患寛解、病徴重症度、疼痛の低減、生活の質、治療効果を維持するのに必要な医薬の用量、疾患マーカーのレベル又は治療されているか若しくは予防の標的となる所与の疾患に適した他の任意の測定可能パラメータを測定することによって評価され得る。このようなパラメータのいずれか1つ又はパラメータの任意の組合せを測定することにより、治療又は予防の有効性を観察することは、十分に当業者の能力の範囲内である。例えば、NAFLDの処置の有効性は、例えば、NAFLD病徴、肝臓脂肪レベル、又は下流遺伝子の発現を定期的に観察することによって評価することができる。最初の読取りと後の読取りとの比較は、治療が有効であるかどうかの指標を医師に提供する。このようなパラメータのいずれか1つ又はパラメータの任意の組合せを測定することにより、治療又は予防の有効性を観察することは、十分に当業者の能力の範囲内である。GPAMを標的化するRNAi又はその医薬組成物の投与と関連して、GPAM関連疾患「に対して有効」とは、臨床的に適切な様式での投与が、少なくとも統計的に有意な割合の患者に、症状の改善、治癒、疾患の低減、延命、生活の質の改善、又はNAFLD及び／若しくはGPAM関連疾患並びに関連原因の治療に精通している医者によって、好ましいと一般に認められている他の効果などの有益な効果をもたらすことを示す。

20

30

40

【0137】

治療又は予防効果は、病状の1つ以上のパラメータにおいて統計的に有意な改善がある場合、又はそうでない場合に予期される症状が悪化又は発症しないことによって明らかとなる。一例として、疾患の測定可能なパラメータの少なくとも10 %の、好ましくは少なくとも20 %、30 %、40 %、50 %以上の好ましい変化が、有効な治療を意味し得る。所与のRNAi薬物又はこの薬物の製剤の有効性は、当技術分野において知られている所与の疾患のための実験動物モデルを用いて判断することもできる。実験動物モデルを使用する場合、治療の有効性は、マーカー又は症状の統計的に有意な低減が観察される場合に証明される。

50

【0138】

対象には、任意の治療有効量のRNAiコンストラクトを投与することができる。RNAiコンストラクトの例示的な治療有効量としては、0.01mg/kg、0.02mg/kg、0.03mg/kg、0.04mg/kg、0.05mg/kg、0.1mg/kg、0.15mg/kg、0.2mg/kg、0.25mg/kg、0.3mg/kg、0.35mg/kg、0.4mg/kg、0.45mg/kg、0.5mg/kg、0.55mg/kg、0.6mg/kg、0.65mg/kg、0.7mg/kg、0.75mg/kg、0.8mg/kg、0.85mg/kg、0.9mg/kg、0.95mg/kg、1.0mg/kg、1.1mg/kg、1.2mg/kg、1.3mg/kg、1.4mg/kg、1.5mg/kg、1.6mg/kg、1.7mg/kg、1.8mg/kg、1.9mg/kg、2.0mg/kg、2.1mg/kg、2.2mg/kg、2.3mg/kg、2.4mg/kg、2.5mg/kg、2.6mg/kg、2.7mg/kg、2.8mg/kg、2.9mg/kg、3.0mg/kg、3.1mg/kg、3.2mg/kg、3.3mg/kg、3.4mg/kg、3.5mg/kg、3.6mg/kg、3.7mg/kg、3.8mg/kg、3.9mg/kg、4.0mg/kg、4.1mg/kg、4.2mg/kg、4.3mg/kg、4.4mg/kg、4.5mg/kg、4.6mg/kg、4.7mg/kg、4.8mg/kg、4.9mg/kg、5.0mg/kg、5.1mg/kg、5.2mg/kg、5.3mg/kg、5.4mg/kg、5.5mg/kg、5.6mg/kg、5.7mg/kg、5.8mg/kg、5.9mg/kg、6.0mg/kg、6.1mg/kg、6.2mg/kg、6.3mg/kg、6.4mg/kg、6.5mg/kg、6.6mg/kg、6.7mg/kg、6.8mg/kg、6.9mg/kg、7.0mg/kg、7.1mg/kg、7.2mg/kg、7.3mg/kg、7.4mg/kg、7.5mg/kg、7.6mg/kg、7.7mg/kg、7.8mg/kg、7.9mg/kg、8.0mg/kg、8.1mg/kg、8.2mg/kg、8.3mg/kg、8.4mg/kg、8.5mg/kg、8.6mg/kg、8.7mg/kg、8.8mg/kg、8.9mg/kg、9.0mg/kg、9.1mg/kg、9.2mg/kg、9.3mg/kg、9.4mg/kg、9.5mg/kg、9.6mg/kg、9.7mg/kg、9.8mg/kg、9.9mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、30mg/kg、35mg/kg、40mg/kg、45mg/kg又は約50mg/kgが挙げられるが、これらに限定されない。一実施形態では、対象には、0.5mg/kgのRNAiコンストラクトが投与され得る。列挙された値の中間の値及び範囲も本開示に含まれる。

【0139】

RNAiコンストラクト又はそれを含む組成物の投与は、例えば、患者の細胞、組織、血液、尿、又は他のコンパートメント内のGPAMタンパク質レベルの存在を、少なくとも約5%、6%、7%、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%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は少なくとも約99%以上低下させ得る。

【0140】

RNAiの総用量の投与前に、5%の注入液などのより少ない用量を患者に投与し、アレルギー反応などの有害作用についてモニターしてもよい。別の実施例では、サイトカイン（例えば、TNF-α又はINF-α）レベルの増大などの望ましくない

免疫賦活作用について、患者を観察してもよい。

【0141】

G P A M 発現に及ぼす阻害効果によって、本発明に従う組成物又はそれから調製される医薬組成物は、生活の質を高めることができる。

【0142】

本発明のRNAiは、「裸の」形態で投与されてもよく、この場合、修飾又は未修飾RNAiコンストラクトは、「遊離RNAi」として、水性又は好適な緩衝溶液中に直接的に懸濁される。遊離RNAiは、医薬組成物の不在下で投与される。遊離RNAiは、好適な緩衝溶液中にあってもよい。バッファ溶液は、アセタート、シトラート、プロラミン、カルボナート、若しくはホスファート、又はそれらのあらゆる組合せを含んでもよい。一実施形態において、バッファ溶液は、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)である。RNAiを含有する緩衝溶液のpH及び重量オスモル濃度は、対象への投与に好適であるように調節され得る。

【0143】

或いは、本発明のRNAiは、dsRNAリボソーム製剤などの医薬組成物として投与され得る。

【0144】

G P A M 遺伝子発現の低下及び／又は阻害から利益を受けることとなる対象は、本明細書中に記載される非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)及び／又はG P A M 関連疾患若しくは障害を患っている対象である。

【0145】

G P A M 遺伝子発現の低下及び／又は阻害から利益を受けることとなる対象の処置として、治療的及び予防的処置が挙げられる。

【0146】

本発明はさらに、例えば既知の医薬品及び／又は既知の治療法といった他の医薬品及び／又は他の治療法、例えば、これらの障害を処置するために現在利用されているものと組み合わせた、G P A M 遺伝子発現の低下及び／又は阻害から利益を受けることとなる対象、例えば、G P A M 関連疾患を患っている対象を処置するための方法、並びにRNAiコンストラクト又はその医薬組成物の使用を提供する。

【0147】

例えば、特定の実施形態では、G P A M 遺伝子を標的化するRNAiは、例えば、G P A M 関連疾患を治療するのに有用な薬剤と組み合わせて投与される。例えば、G P A M 発現の低下から利益を得る対象、例えばG P A M 関連疾患を有する対象を治療するのに適した追加の治療薬及び治療方法には、G P A M 遺伝子の異なる部分を標的とするRNAiコンストラクト、治療薬、及び／又はG P A M 関連疾患を治療するための手順、又は前述のいずれかの組合せが含まれる。特定の実施形態では、G P A M 遺伝子を標的とする第1のRNAiコンストラクトは、G P A M 遺伝子の異なる部分を標的とする第2のRNAiコンストラクトと組み合わせて投与される。例えば、第1のRNAiコンストラクトは、二重鎖領域を形成する第1のセンス鎖及び第1のアンチセンス鎖を含んでいてもよく、前記第1のセンス鎖のヌクレオチドの実質的に全て、且つ第1のアンチセンス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが修飾ヌクレオチドであり、前記第1のセンス鎖は、3'末端に結合したリガンドにコンジュゲートされており、当該リガンドは、二価又は三価の分枝状リンカーを介して結合された1つ以上のGalNAc誘導体であり；且つ第2のRNAiコンストラクトは、二重鎖領域を形成する第2のセンス鎖及び第2のアンチセンス鎖を含み、第2のセンス鎖のヌクレオチドの実質的に全て、且つ第2のアンチセンス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが修飾ヌクレオチドであり、第2のセンス鎖は、3'末端に結合したリガンドにコンジュゲートされており、当該リガンドは、二価又は三価の分枝状リンカーを介して結合された1つ以上のGalNAc誘導体である。一実施形態では、第1及び第2のセンス鎖のヌクレオチドの全て、並びに／又は第1及び第2のアンチセンス鎖のヌクレオチドの全ては、修飾を含む。修飾ヌクレオチドは、本明細書に記載の修飾ヌクレオチドの

いずれか1つ又は組合せであり得る。

【0148】

他の実施形態において、GPAM遺伝子を標的化する第1のRNAiコンストラクトは、GPAM遺伝子とは異なる遺伝子を標的化する第2のRNAiコンストラクトと組み合わせて投与される。例えば、GPAM遺伝子を標的化するRNAiコンストラクトは、SCAP遺伝子を標的化するRNAiコンストラクトと組み合わせて投与されてよい。SCAP (SREBP切断活性化タンパク質) は、SREBPファミリーの転写因子の唯一知られている調節因子である。SREBP (ステロール応答要素結合タンパク質) ファミリーは、肝臓内での新規の脂質生成及びトリグリセリド (TG) 蓄積の調節において、重要な役割を果たす。GPAM遺伝子を標的化する第1のRNAiコンストラクト、及び異なる遺伝子、例えば、SCAP遺伝子を標的化する第2のRNAiコンストラクトは、同じ医薬組成物の一部として投与されてよい。或いは、GPAM遺伝子を標的化する第1のRNAiコンストラクト、及び異なる遺伝子、例えば、SCAP遺伝子を標的化する第2のRNAiコンストラクトは、異なる医薬組成物の一部として投与されてよい。これに加えて、又はこれに代えて、GPAM遺伝子を標的とする第1のRNAiコンストラクトは、パタチン様ホスホリパーゼドメイン含有 (Patatin-Like Phospholipase Domain Containing 3、PNPLA3) 遺伝子を標的とする第2のRNAiコンストラクトと組み合わせて、又はSCAPを標的とする第2のRNAi及びPNPLA3を標的とする第3のRNAiと組み合わせて投与することができる。以前にアディポニュートリン (ADPN) 及びカルシウム非依存性ホスホリパーゼA2-1 (iPLA (2) ϵ) として知られるパタチン様ホスホリパーゼドメイン含有3 (PNPLA3) は、II型膜貫通タンパク質である (Wilson et al (2006) J Lipid Res 47 (9): 1940-9; Jenkins et al (2004) J Biol Chem 279 (47): 48968-75)。マウスにおいて脂肪生成中に誘導される膜結合型の脂肪に富むタンパク質として脂肪細胞で最初に同定されたが、現在では肝臓を含む他の組織において発現していることが明らかになっている (Wilson et al, 上掲; Baulande et al (2001) J Biol Chem 276 (36): 33336-44; Moldes et al. (2006) Eur J Endocrinol 155 (3): 461-8; Faraj et al. (2006) J Endocrinol 191 (2): 427-35; Liu et al (2004) J Clin Endocrinol Metab 89 (6): 2684-9; Lake et al (2005) J Lipid Res 46 (11): 2477-87)。無細胞生化学系において、組換え体PNPLA3タンパク質は、トリアシルグリセロールリパーゼ又はアシル交換反応活性のいずれかを示すことができる (Jenkins et al., 上掲; Kumari et al (2012) Cell Metab 15 (5): 691-702; He et al (2010) J Biol Chem 285 (9): 6706-15)。肝細胞において、PNPLA3は、小胞体及び脂質膜上に発現され、主にトリアシルグリセロールヒドロラーゼ活性を示す (He et al., 上掲; Huang et al (2010) Proc Natl Acad Sci USA 107 (17): 7892-7; Ruhanen et al (2014) J Lipid Res 55 (4): 739-46; Pingitore et al. (2014) Biochim Biophys Acta 1841 (4): 574-80)。分泌性シグナルを欠いているが、データは、PNPLA3が分泌され、且つジスルフィド結合依存性多量体としてヒト血漿において見出され得ることを示す (Winberg et al. (2014) Biochem Biophys Res Commun 446 (4): 1114-9)。

【0149】

RNAiコンストラクト及び追加の治療剤並びに／又は処置は、同時に、且つ／又は同じ組合せで、例えば、非経口的に投与してもよく、或いは、追加の治療剤が、別個の組成物の一部として、若しくは別々に、且つ／又は当技術分野において知られているか若しく

10

20

30

40

50

は本明細書に記載される別の方法によって投与してもよい。

【0150】

本発明はまた、細胞内のGPAM発現（遺伝子又はタンパク質発現）を低下させ、及び／又は阻害するために、本発明のRNAiコンストラクト及び／又は本発明のRNAiコンストラクトを含有する組成物を使用する方法も提供する。さらに他の態様において、細胞内のGPAM遺伝子発現を低下させ、且つ／又は阻害する医薬の製造のための、本発明のRNAiコンストラクト及び／又は本発明のRNAiコンストラクトを含む組成物の使用が提供される。さらに他の態様では、本発明は、細胞内のGPAMタンパク質産生を低下させ、及び／又は阻害するのに使用するための、本発明のRNAi及び／又は本発明のRNAiコンストラクトを含む組成物を提供する。さらに他の態様において、細胞内でのGPAMタンパク質産生を低下させ、且つ／又は阻害する医薬の製造のための、本発明のRNAiコンストラクト及び／又は本発明のRNAiコンストラクトを含む組成物の使用が提供される。本方法及び使用は、細胞を本発明のRNAiコンストラクト、例えばdsRNAと接触させ、GPAM遺伝子のmRNA転写物の分解を達成するのに十分な時間にわたって細胞を維持し、それにより細胞内のGPAM遺伝子の発現を阻害するか又はGPAMタンパク質産生を阻害することを含む。遺伝子発現の低下は、mRNA又はタンパク質レベルを決定するための当技術分野で公知の又は本明細書に記載される任意の方法によって評価することができる。

10

【0151】

本発明の方法及び使用において、細胞は、インビトロで接触されてもインビボで接触されてもよい、すなわち、細胞は、対象の外側（例えば細胞培養中）にあっても又は対象内にあってもよい。本発明の方法を使用する処置に適した細胞は、GPAM遺伝子を発現するあらゆる細胞、例えば、NAFLDを患っている対象由来の細胞、又はGPAM遺伝子若しくはGPAM遺伝子の一部を含む発現ベクターを含む細胞であり得る。本開示の方法に用いるのに好適な細胞としては、例えば哺乳動物細胞、例えば霊長類細胞（ヒト細胞又は非ヒト霊長類細胞、例えばサル細胞若しくはチンパンジー細胞など）、非霊長類細胞（ウシ細胞、ブタ細胞、ラクダ細胞、ラマ細胞、ウマ細胞、ヤギ細胞、ウサギ細胞、ヒツジ細胞、ハムスター、モルモット細胞、ネコ細胞、イヌ細胞、ラット細胞、マウス細胞、ライオン細胞、トラ細胞、クマ細胞又はバッファロー細胞など）、鳥類細胞（例えば、アヒル細胞又はガチョウ細胞）又はクジラ細胞が挙げられる。一実施形態では、細胞は、ヒト細胞である。

20

30

【0152】

GPAM遺伝子発現は、細胞内で、少なくとも約5%、6%、7%、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%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は約100%阻害され得る。

40

【0153】

GPAMタンパク質の産生は、細胞内で少なくとも約5%、6%、7%、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%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、

50

60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%又は約100%阻害され得る。

【0154】

本発明のインビボでの方法及び使用は、RNA iコンストラクトを含有する組成物を対象に投与することを含んでもよく、RNA iコンストラクトは、処置されることとなる対象のGPAM遺伝子のRNA転写物の少なくとも一部と相補的なヌクレオチド配列を含む。治療対象の生物がヒトである場合、組成物は、当技術分野で知られる任意の手段によって投与してもよく、このような手段としては、皮下、静脈内、経口、腹腔内又は頭蓋内（例えば、脳室内、実質内及び髄腔内）、筋肉内、経皮、気道（噴霧剤）、経鼻、直腸を含む非経口経路並びに局所（頬側及び舌下を含む）投与が挙げられるが、これらに限定されない。特定の実施形態では、組成物は、皮下又は静脈内の注入又は注射によって投与される。一実施形態では、組成物は、皮下注射によって投与される。

【0155】

いくつかの実施形態では、投与は、デポ注射による。デポ注射は、長期間にわたってRNA iコンストラクトを一貫して放出し得る。ゆえに、デポ注射は、所望の効果、例えば、所望のGPAMの阻害、又は治療効果若しくは予防効果を得るのに必要な投与頻度を減少させ得る。デポ注射は、より一貫した血清濃度も提供し得る。デポ注射としては、皮下注射又は筋肉内注射が挙げられ得る。いくつかの実施形態では、デポ注射は、皮下注射である。

【0156】

いくつかの実施形態では、投与は、ポンプによる。ポンプは、外部ポンプ又は外科的に埋め込まれるポンプであり得る。特定の実施形態では、ポンプは、皮下に埋め込まれる浸透圧ポンプである。他の実施形態では、ポンプは、注入ポンプである。注入ポンプは、静脈内、皮下、動脈又は硬膜外注入に用いられ得る。好ましい実施形態では、注入ポンプは、皮下注入ポンプである。他の実施形態では、ポンプは、RNA iを対象に送達する外科的に植え込まれたポンプである。

【0157】

投与様式は、局所性又は全身性の処置が所望されるかに基づいて、そして処置されることとなる領域に基づいて選択されてよい。投与経路及び投与部位は、標的化を高めるように選択され得る。

【0158】

方法及び使用は、哺乳動物の細胞内でGPAM遺伝子を標的化するRNA iコンストラクト、例えばsiRNAを含む組成物を、哺乳動物、例えばヒトに投与することと、哺乳動物を、GPAM遺伝子のmRNA転写物の分解を得るのに十分な時間維持することによって、哺乳動物内でのGPAM遺伝子の発現を阻害することを含む。遺伝子発現及び／又はタンパク質発現の低下は、当技術分野で公知の又は本明細書に記載される任意の方法によって、RNA iコンストラクト投与対象から得られたサンプルで評価することができる。一実施形態において、組織サンプルは、GPAM遺伝子及び／又はタンパク質発現の低下を監視するための組織材料として機能する。別の実施形態において、血液サンプルは、GPAM遺伝子及び／又はタンパク質発現の低下を監視するための組織材料として機能する。

【0159】

いくつかの実施形態では、RNA iコンストラクトを投与した後のインビボにおける標的mRNA（例えばGPAM mRNA）のRISC媒介性切断の検証は、5'-RACE又は当技術分野で知られるプロトコルの改変（Lasham A et al., (2010) Nucleic Acid Res., 38 (3) p-e19; 及びZimmermann et al., (2006) Nature 441:111-4）を実行する

ことによって行われる。

【0160】

本明細書に開示される全てのリボ核酸配列は、配列中のウラシル塩基をチミン塩基で置換することにより、デオキシリボ核酸配列に変換することができる。同様に、本明細書に開示される全てのデオキシリボ核酸配列は、配列中のチミン塩基をウラシル塩基と置換することにより、リボ核酸配列に変換することができる。本明細書に開示される全ての配列のデオキシリボ核酸配列、リボ核酸配列並びにデオキシリボヌクレオチド及びリボヌクレオチドの混合物を含有する配列が本発明に含まれる。

【0161】

加えて、本明細書に開示されるあらゆる核酸配列は、化学修飾の任意の組合せによって修飾され得る。当技術分野の当業者は、特定の場合、修飾ポリヌクレオチドを記載するための「RNA」又は「DNA」のこのような指定が任意であることを容易に理解するであろう。例えば、リボース糖に2'-OH置換基及びチミン塩基を有するヌクレオチドを含むポリヌクレオチドは、修飾糖を有するDNA分子（DNAの天然の2'-Hに対して2'-OH）又は修飾塩基（RNAの天然のウラシルに対してチミン（メチル化ウラシル））を有するRNA分子と記載され得る。

【0162】

従って、配列表に記載のものを含むがこれらに限定されない本明細書に提供される核酸配列は、修飾核酸塩基を有するそのような核酸を含むが、これらに限定されない天然若しくは修飾RNA及び／又はDNAの任意の組合せを含有する核酸を包含するように意図される。更なる例として、限定するものではないが、配列「ATCGATCG」を有するポリヌクレオチドは、修飾又は非修飾にかかわらないRNA塩基、例えば配列「AUCGAUCG」を有するもの、並びに「AUCGATCG」などのいくつかのDNA塩基及びRNA塩基を有するもの、並びに「ATmeCGAUCG」などの他の修飾塩基を有するポリヌクレオチドを含むそのような化合物を含むが、これらに限定されないそのような配列を有する任意のポリヌクレオチドを包含し、配列中、meCは、5位にメチル基を含むシトシン塩基を示す。

【0163】

実行された実験及び達成された結果を含む以下の実施例は、例示目的のためにのみ提供されるものであり、添付の特許請求の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。

【実施例】

【0164】

本明細書に記載される全ての動物実験は、Amgenの動物実験委員会（IACUC）により承認され、Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8th Edition (National Research Council (U.S.)), Guide for the Care and Use of Laboratory Animalsの更新のための委員会、Institute for Laboratory Animal Research (U.S.) 及びNational Academies Press (U.S.) (2011) Guide for the care and use of laboratory animals. 8th Ed., National Academies Press, Washington, D.C. に従って管理された。マウスは、空調された空間において $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ で12時間明期；12時間暗期のサイクル（0600～1800時間）で単独飼育した。動物には、別段の指示がない限り、通常の固形飼料食餌（Envigo、2920X、又は別途明記された食餌）及び自動給水システムによる水（逆浸透精製）を自由に与えた。終了時に、深麻酔下で心臓穿刺によって血液を回収し、その後Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care (AAALAC) ガイドラインに従って、二次的な物理的方法によって安楽死させた。

【 0 1 6 5 】

実施例 1：修飾 GPAM siRNA 分子の選択、設計、及び合成

グリセロール-3-リン酸アシルトランスフェラーゼ、ミトコンドリア (GPAM) を標的とする治療用 siRNA 分子の最適な配列の同定及び選択を、ヒト GPAM 転写物 (GenBank アクセス番号 XM_005269998.1) のバイオインフォマティクス解析を使用して同定した。表 1 は、治療特性を有すると同定された、センス鎖の 3' 末端に付加された逆位脱塩基ヌクレオチドを有する GPAM mRNA 標的配列を列挙する。

【 0 1 6 6 】

【表 1 - 1】

表1. GPAMに対するsiRNA配列

二重鎖 番号	センス配列(5'-3')	配列 番号 (センス)	アンチセンス配列(5'-3')	配列番号 (アンチ センス)
1001	GGGACUCUUUCUGAGGUUAC{invAb}	1	AGUAACCUCCAGAAAGAGUCCCUU	2
1002	CUUUCUGAGGUUACUGUGGA{invAb}	3	AUCCACAGUAACCUCCAGAAAGUU	4
1003	CUGAGGUUACUGUGGAGCAC{invAb}	5	AGUGCUCCACAGUAACCUCCAGUU	6
1004	UUUUCUAAUCGACUGAUUGG{invAb}	7	UCCAAUCAGUCGAUUAGCAAUU	8
1005	GCUAAUCGACUGAUUGGAAA{invAb}	9	AUUUCCAAUCAGUCGAUUAGCUU	10
1006	CUAAUCGACUGAUUGGAAAU{invAb}	11	UAUUUCCAAUCAGUCGAUUAGUU	12
1007	UAAUCGACUGAUUGGAAUA{invAb}	13	UUUUUCCAAUCAGUCGAUUUU	14
1008	AAUCGACUGAUUGGAAUA{invAb}	15	AUUUUUCCAAUCAGUCGAUUUU	16
1009	GGAAUAUUUCCUCAAACAC{invAb}	17	AGUGUUUGAGGAAUUUUUCCUU	18
1010	AAUAAUCCUCAAACACCAC{invAb}	19	AGUGGUGUUUGAGGAAUUUUUU	20
1011	ACACCACCAAGUCAAGGAUA{invAb}	21	AUAUCCUUGACUUGGUGGUGUUU	22
1012	ACCACCAAGUCAAGGAUACA{invAb}	23	AUGUAUCCUUGACUUGGUGGUGUU	24
1013	AGUCAAGGAUACAGGCAGCA{invAb}	25	AUGCUGCCUGUAUCCUUGACUUU	26
1014	AAGGAUACAGGCAGCAGCGG{invAb}	27	ACCGCUGCUGCCUGUAUCCUUUU	28
1015	GCAGCGGCUCUCCUGUUGUA{invAb}	29	AUACAACAGGGGAGCCGUGCUU	30
1016	AGCGGCUCUCCUGUUGUAUG{invAb}	31	ACAUACAACAGGGGAGCCGCUU	32
1017	CGGCUCUCCUGUUGUAUGGA{invAb}	33	AUCCAUACAACAGGGGAGCCGUU	34
1018	CCCCUGUUGUAUGGACAUUC{invAb}	35	AGAAUGUCCAUAACAACAGGGGUU	36
1019	UGGACAUUCUGCACCCGAAA{invAb}	37	AUUUCGGGUGCAGAAUGUCCAUU	38
1020	CUGCACCCGAAACUGAUAGC{invAb}	39	AGCUAUCAGUUUCGGGUGCAGUU	40
1021	UGCACCCGAAACUGAUAGCU{invAb}	41	AAGCUAUCAGUUUCGGGUGCAUU	42
1022	CACCCGAAACUGAUAGCUGA{invAb}	43	AUCAGCUAUCAGUUUCGGGUGUU	44
1023	CCGAAACUGAUAGCUGAGUC{invAb}	45	AGACUCAGCUAUCAGUUUCGGUU	46
1024	AACUGAUAGCUGAGUCCUGA{invAb}	47	UUCAGGACUCAGCUAUCAGUUUU	48
1025	AUAGCUGAGUCCUGAAGUUU{invAb}	49	AAAACUUCAGGACUCAGCUAUUU	50
1026	CAGCACAUGAUUUUGGGAUU{invAb}	51	UAAUUCGCAAAUUAUGUGUGUU	52
1027	ACAUGAUUUUGGGAUUACAC{invAb}	53	AGUGUAAUUCGCAAAUUAUGUUU	54
1028	AUUUGGGAUUACACUUUGU{invAb}	55	AACAAAGUGUAAUUCGCAAAUUU	56
1029	GGGAUUACACUUUGUGACA{invAb}	57	AUGUCACAAAGUGUAAUUCUUU	58
1030	GAAUACACUUUGUGACAUG{invAb}	59	ACAUGUCACAAAGUGUAAUUCUU	60

【 0 1 6 7 】

【表 1 - 2】

1031	ACACUUUGUGACAUGGAUGA{invAb}	61	UUCAUCCAUGUCACAAAGUGUUU	62
1032	CACUUUGUGACAUGGAUGAA{invAb}	63	AUUCAUCCAUGUCACAAAGUGUU	64
1033	AUGAAUCUGCACUGACCCUU{invAb}	65	AAAGGGUCAGUCAGAUUCAUUU	66
1034	AUCUGCACUGACCCUUGGUA{invAb}	67	AUACCAAGGGUCAGUCAGAUUU	68
1035	GCACUGACCCUUGGUACAAU{invAb}	69	UAUUGUACCAAGGGUCAGUGCUU	70
1036	CUGACCCUUGGUACAAUAGA{invAb}	71	AUCUAUUGUACCAAGGGUCAGUU	72
1037	AAUAGAUGUUUCUUAUCUGC{invAb}	73	AGCAGAUAGAACAUCUAUUUU	74
1038	AUCAGAAUACAGUGUUGGUC{invAb}	75	AGACCAACACUGUAUUCUGAUUU	76
1039	UCAGAAUACAGUGUUGGUCG{invAb}	77	UCGACCAACACUGUAUUCUGAUU	78
1040	CAGAAUACAGUGUUGGUCGA{invAb}	79	AUCGACCAACACUGUAUUCUGUU	80
1041	AGAAUACAGUGUUGGUCGAU{invAb}	81	AAUCGACCAACACUGUAUUCUUU	82
1042	GAAUACAGUGUUGGUCGAUG{invAb}	83	ACAUCGACCAACACUGUAUUCUU	84
1043	AAUACAGUGUUGGUCGAUGU{invAb}	85	UACAUCGACCAACACUGUAUUUU	86
1044	UACAGUGUUGGUCGAUGUAA{invAb}	87	AUUACAUCGACCAACACUGUAUU	88
1045	AGUGUUGGUCGAUGUAAGCA{invAb}	89	AUGCUUACAUCGACCAACACUUU	90
1046	UGUAAGCACACAAGUGAGGA{invAb}	91	UUCUCACUUGUGUGCUUACAUU	92
1047	UAAGCACACAAGUGAGGAAU{invAb}	93	AAUUCUCACUUGUGUGCUUAUU	94
1048	GCACACAAGUGAGGAAUGGG{invAb}	95	ACCAUUCUCACUUGUGUGCUU	96
1049	GGAAAGAAAGCCUAAUGAGU{invAb}	97	AACUCAUUAAGGCUUUCUUCCUU	98
1050	AAGAAAGCCUAAUGAGUCGG{invAb}	99	UCCGACUCAUUAAGGCUUUCUUU	100
1051	AGAAAGCCUAAUGAGUCGGA{invAb}	101	UUCGACUCAUUAAGGCUUUCUUU	102
1052	GAAAGCCUAAUGAGUCGGAU{invAb}	103	UUUCCGACUCAUUAAGGCUUUCUU	104
1053	AAGCCUAAUGAGUCGGAAAA{invAb}	105	AUUUUCGACUCAUUAAGGCUUUU	106
1054	CCUAAUGAGUCGGAAAAGGC{invAb}	107	AGCCUUUUCGACUCAUUAAGGUU	108
1055	CUAAUGAGUCGGAAAAGGCC{invAb}	109	UGGCCUUUUCGACUCAUUAAGUU	110
1056	AAUGAGUCGGAAAAGGCCAU{invAb}	111	AAUGGCCUUUUCGACUCAUUUUU	112
1057	GUUGGAAGAUUGUUAUCUC{invAb}	113	AGAGUAACAACAUUCCAACUU	114
1058	AAAUUUUUAACCCAGUAU{invAb}	115	AAUACUGGGGUUGAAAAUUUUU	116
1059	AAUUUUUAACCCAGUAUC{invAb}	117	AGAUACUGGGGUUGAAAAUUUU	118
1060	UGGGUUUUGCGAAUGUUAUU{invAb}	119	AAUAACAUUCGCAAAACCAUU	120
1061	GGUUUGCGGAAUGUUAUUUA{invAb}	121	AUAAUAACAUUCGCAAAACCUU	122
1062	UGCGGAAUGUUAUUUAUAUC{invAb}	123	UGAUUAUUUAACAUUCGCAUU	124
1063	GCGGAAUGUUAUUUAUAUCA{invAb}	125	UUGAUUAUUUAACAUUCGCGUU	126
1064	AUUUAUAUCAAGAAACUCA{invAb}	127	AUGAGUUUCAUUGAUUAUUUUU	128
1065	UUAUAUCAAGAAACUCACA{invAb}	129	AUGUGAGUUUCAUUGAUUAUUU	130
1066	UCAAGAAACUCACACAAGA{invAb}	131	AUCUUGUGAGUUUCAUUGAUU	132
1067	UGAAACUCACACAAGACACC{invAb}	133	AGGUGUCUUGUGUGAGUUUCAUU	134
1068	GAAACUCACACAAGACACCG{invAb}	135	ACGGUGUCUUGUGUGAGUUUCUU	136
1069	CGCGAUGGCUUGCAAGACG{invAb}	137	ACGUCUUGCAAGCAUCCGCGUU	138
1070	GCGGAUGGCUUGCAAGACGC{invAb}	139	AGCGUCUUGCAAGCAUCCGCUU	140
1071	GCUUGCAAGACGCCUUCUU{invAb}	141	UAAGAAAGGCGUCUUGCAAGCUU	142
1072	UCUUUUUAUUAAGAGCGAG{invAb}	143	UCUCGCUUUGAAUAAAAAGAUU	144

【 0 1 6 8 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

1073	CUUUUUUAUUAAGAGCGAGA{invAb}	145	AUCUCGCUCUUGAAUAAAAAGUU	146
1074	UUUUUAUUAAGAGCGAGAU{invAb}	147	AAUCUCGCUCUUGAAUAAAAAUU	148
1075	UUUUUAUUAAGAGCGAGAU{invAb}	149	ACAUCUCGCUCUUGAAUAAAAAUU	150
1076	UUUAUUAAGAGCGAGAU{invAb}	151	AACAUCUCGCUCUUGAAUAAAAAUU	152
1077	UUUAUUAAGAGCGAGAU{invAb}	153	ACACAUCUCGCUCUUGAAUAAAAAUU	154
1078	AAGAGCGAGAUUGCAUAAG{invAb}	155	ACUUAUGCACAUCUCGCUCUUUU	156
1079	AGAGCGAGAUUGCAUAAGG{invAb}	157	ACCUUAUGCACAUCUCGCUCUUU	158
1080	GAGCGAGAUUGCAUAAGGG{invAb}	159	ACCCUUAUGCACAUCUCGCUCUU	160
1081	AGAUGUGCAUAAGGGCAUGU{invAb}	161	AACAUGCCCUUAUGCACAUCUUU	162
1082	AUGUGCAUAAGGGCAUGUUU{invAb}	163	AAAACAUGCCCUUAUGCACAUCUU	164
1083	GUGCAUAAGGGCAUGUUUG{invAb}	165	AGCAAACAUGCCCUUAUGCACUU	166
1084	GGCAUGUUUGCCACCAUUGU{invAb}	167	AACAUUGGUGGCAAACAUGCCUU	168
1085	GCAUGUUUGCCACCAUUGUG{invAb}	169	UCACAUGGUGGCAAACAUGCUU	170
1086	AUGUUUGCCACCAUUGUGAC{invAb}	171	AGUCACAUGGUGGCAAACAUCUU	172
1087	UGCUGAACAGCAGUAGAGUA{invAb}	173	AUACUCUACUGCUGUUCAGCAUU	174
1088	CUGAACAGCAGUAGAGUACA{invAb}	175	UUGUACUCUACUGCUGUUCAGUU	176
1089	UAGAGUACAAGAGGCAAUUG{invAb}	177	ACAAUUGCCCUUUGUACUCUAUU	178
1090	GUACAAGAGGCAAUUGCAGA{invAb}	179	UUCUGCAAUUGCCCUUUGUACUU	180
1091	AAGAGGCAAUUGCAGAAGUG{invAb}	181	ACACUUCUGCAAUUGCCCUUUUU	182
1092	UGCUGAAUUAACCCUGAUG{invAb}	183	ACAUCAGGGUUUAUUUCAGCAUU	184
1093	UGAAUUAACCCUGAUGGUU{invAb}	185	AAACCAUCAGGGUUUAUUUCAUU	186
1094	GAAUUAACCCUGAUGGUUC{invAb}	187	AGAACCAUCAGGGUUUAUUUCUU	188
1095	UGCCCAGCAGCAAUCAAAG{invAb}	189	ACUUUUGAUUGCUGUGGCAUU	190
1096	GCAGCAAUCAAAGCCGUUA{invAb}	191	UUAACGGCUUUUGAUUGCUGCUU	192
1097	AGCAAUCAAAGCCGUUAAC{invAb}	193	UGUUAACGGCUUUUGAUUGCUUU	194
1098	CAAUCAAAGCCGUUAACAA{invAb}	195	UUUGUUAACGGCUUUUGAUUGUU	196
1099	AAUCAAAGCCGUUAACAA{invAb}	197	AUUUGUUAACGGCUUUUGAUUUU	198
1100	AUCAAAGCCGUUAACAAAG{invAb}	199	ACUUUGUUAACGGCUUUUGAUUU	200
1101	UCAAAGCCGUUAACAAAGU{invAb}	201	AACUUUGUUAACGGCUUUUGAUU	202
1102	AAAAGCCGUUAACAAAGUGA{invAb}	203	UUCACUUUGUUAACGGCUUUUUU	204
1103	AAAGCCGUUAACAAAGUGAA{invAb}	205	UUUCACUUUGUUAACGGCUUUUU	206
1104	GCCGUUAACAAAGUGAAAAA{invAb}	207	AUUUUUACUUUGUUAACGGCUU	208
1105	AAAGAAAGCUAAAAGGAUUC{invAb}	209	AGAAUCCUUUAGCUUUUUUUU	210
1106	AAAAGGAUUCUUAAGAAAU{invAb}	211	AAUUUCUUGAAGAAUCCUUUUU	212
1107	CACUGUCUACCGGCAUUGA{invAb}	213	AUCAUUGCCGUGAGACAGUGUU	214
1108	UGUCUACCGGCAUUGAUCA{invAb}	215	AUGAUCAUUGCCGUGAGACAUU	216
1109	CUCACCGGCAUUGAUCAGAC{invAb}	217	AGUCUGAUCAUUGCCGUGAGUU	218
1110	GCAUGAUCAAGACUGACUGG{invAb}	219	ACCAGUCAGUCUGAUCAUUGCUU	220
1111	AUCAGACUGACUGGGUGGGU{invAb}	221	AACCCACCCAGUCAGUCUGAUUU	222
1112	GGUGCUGCUAAAACUGUUA{invAb}	223	UUGAACAGUUUAGCAGCACCUU	224
1113	GUGCUGCUAAAACUGUCAA{invAb}	225	AUUGAACAGUUUAGCAGCACUU	226
1114	UCAAUUCACAAAGGUCAAC{invAb}	227	AGUUGACCUUUGUGAAUUUGAUU	228

【 0 1 6 9 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 4】

1115	AAUUCACAAAGGUCAACUUG{invAb}	229	UCAAGUUGACCUUUGUGAAUUUU	230
1116	ACAAAGGUCAACUUGAGAUG{invAb}	231	ACAUCUCAAGUUGACCUUUGUUU	232
1117	AGGUCAACUUGAGAUGGUUA{invAb}	233	UUAACCAUCUCAAGUUGACCUUU	234
1118	GGUUAAGCUGCAACUGAGA{invAb}	235	AUCUCAGUUGCAGCUUUAACCUU	236
1119	GUUAAAGCUGCAACUGAGAC{invAb}	237	AGUCUCAGUUGCAGCUUUAACUU	238
1120	AAAGCUGCAACUGAGACGAA{invAb}	239	AUUCGUCUCAGUUGCAGCUUUUU	240
1121	AGCUGCAACUGAGACGAAUU{invAb}	241	AAAUUCGUCUCAGUUGCAGCUUU	242
1122	CUGCAACUGAGACGAAUUUG{invAb}	243	ACAAAUUCGUCUCAGUUGCAGUU	244
1123	CAACUGAGACGAAUUUGCCG{invAb}	245	ACGGCAAUUCGUCUCAGUUGUU	246
1124	GAGACGAAUUUGCCGCUUCU{invAb}	247	AAGAAGCGGCAAUUCGUCUCUU	248
1125	AGACGAAUUUGCCGCUUCUG{invAb}	249	ACAGAAGCGGCAAUUCGUCUUU	250
1126	GACGAAUUUGCCGCUUCUGU{invAb}	251	AACAGAAGCGGCAAUUCGUCUU	252
1127	ACGAAUUUGCCGCUUCUGUU{invAb}	253	AAACAGAAGCGGCAAUUCGUUU	254
1128	CGAAUUUGCCGCUUCUGUUU{invAb}	255	AAACAGAAGCGGCAAUUCGUU	256
1129	UUUGCCGCUUCUGUUUCUAC{invAb}	257	AGUAGAAACAGAAGCGGCAAUU	258
1130	UUCUGUUUCUACCAGUUCAU{invAb}	259	UAUGAACUGGUAGAAACAGAAUU	260
1131	UCUGUUUCUACCAGUUCAUA{invAb}	261	AUAUGAACUGGUAGAAACAGAUU	262
1132	CUGUUUCUACCAGUUCAUAG{invAb}	263	UCUAUGAACUGGUAGAAACAGUU	264
1133	UUUCUACCAGUUCAUAGAUC{invAb}	265	AGAUCUAUGAACUGGUAGAAUU	266
1134	UUCUACCAGUUCAUAGAUCC{invAb}	267	AGGAUCUAUGAACUGGUAGAAUU	268
1135	CAUAGAUCCAUUUGACUA{invAb}	269	AUAGUCAAUUGGGAUUCUAGUU	270
1136	AUAGAUCCAUUUGACUAU{invAb}	271	AAUAGUCAAUUGGGAUUCUUUU	272
1137	UAGAUCCAUUUGACUAUC{invAb}	273	AGAUAGUCAAUUGGGAUUCUUU	274
1138	AGAUCCAUUAUGACUAUCU{invAb}	275	AAGAUAGUCAAUUGGGAUUCUU	276
1139	AUCCCAUUAUGACUAUCUGC{invAb}	277	AGCAGAUAGUCAAUUGGGAUUU	278
1140	UCCCAUUAUGACUAUCUGCU{invAb}	279	AAGCAGAUAGUCAAUUGGGAUU	280
1141	CCAUAACAUCAAAGCACCAU{invAb}	281	UAUGGUGCUUUGAUUUUUGGUU	282
1142	CAUCAAGCACCAUACAUUG{invAb}	283	ACAUGUAUGGUGCUUUGAUUU	284
1143	CAUUGCUUCAGGCAAUAUC{invAb}	285	AGAUUAUUGCCUGAAGCAAUUU	286
1144	AUUGCUUCAGGCAAUAUCU{invAb}	287	AAGAUUAUUGCCUGAAGCAAUUU	288
1145	UUGGGGGCUUCUUCAUACGA{invAb}	289	AUCGUAGGAAGAAGCCCCAAUU	290
1146	CUUCAUACGACGAAGGCUCG{invAb}	291	UCGAGCCUUCGUCGUAGUAGUU	292
1147	AUACGACGAAGGCUCGAUGA{invAb}	293	UUCAUCGAGCCUUCGUCGUUUU	294
1148	UACGACGAAGGCUCGAUGAA{invAb}	295	UUUCAUCGAGCCUUCGUCGUUU	296
1149	CGACGAAGGCUCGAUGAAAC{invAb}	297	UGUUUCAUCGAGCCUUCGUCGUU	298
1150	ACGAAGGCUCGAUGAAACAC{invAb}	299	AGUGUUUCAUCGAGCCUUCGUUU	300
1151	GAAGGCUCGAUGAAACACCA{invAb}	301	AUGGUGUUUCAUCGAGCCUUCUU	302
1152	CAGAUGGACGGAAGAUGUU{invAb}	303	AAACAUCUUUCCGUCCAUCUGUU	304
1153	GGACGGAAGAUGUUCUCUA{invAb}	305	AUAGAGAACAUCUUUCCGUCCUU	306
1154	GCUUUGCUCCAUGGGCAUAU{invAb}	307	UAUAUGCCCAUGGAGCAAAGCUU	308
1155	UUUGCUCCAUGGGCAUAUAG{invAb}	309	ACUAUAUGCCCAUGGAGCAAUU	310
1156	UGCUCCAUGGGCAUAUAGUU{invAb}	311	AAACUAUAUGCCCAUGGAGCAUU	312

【 0 1 7 0 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 5】

1157	GGGCAUUAUAGUUGAAUACU{invAb}	313	AAGUAAUUAACUAUAUGCCCUU	314
1158	CAUUAUAGUUGAAUUAUCUUCG{invAb}	315	UCGAAGUAAUUAACUAUAUGUU	316
1159	AUAGUUGAAUUAUCUUCGACA{invAb}	317	AUGUCGAAGUAAUUAACUAUUU	318
1160	GUUGAAUUAUCUUCGACAGCA{invAb}	319	AUGCUGCGAAGUAAUUAACUU	320
1161	ACUUCGACAGCAGCAAUUCU{invAb}	321	AAGAAUUGCUGCUGUGAAGUUU	322
1162	CGUUCUAGGAGUGGAAAAAC{invAb}	323	AGUUUUUCCACUCCUAGAAGUU	324
1163	GUUCUAGGAGUGGAAAAACC{invAb}	325	AGGUUUUCCACUCCUAGAACUU	326
1164	UUUUGUCAGUUGUGGUAGAU{invAb}	327	UAUCUACCACAACUGACAAAUU	328
1165	UUGUCAGUUGUGGUAGAUAC{invAb}	329	AGUAUCUACCACAACUGACAAUU	330
1166	UCAGUUGUGGUAGAUACUCU{invAb}	331	AAGAGUAUCUACCACAACUGAUU	332
1167	CUACCAUUGUCAUCCAGAC{invAb}	333	UGUCUGGGAUGACAUUGGUAGUU	334
1168	AUGUCAUCCAGACAUUCUUG{invAb}	335	UCAAGAUUCUGGGGAUGACAUUU	336
1169	UGUCAUCCAGACAUUCUGA{invAb}	337	AUCAAGAUUCUGGGGAUGACAUU	338
1170	GUCAUCCAGACAUUCUGAU{invAb}	339	UAUCAAGAUUCUGGGGAUGACUU	340
1171	CCCAGACAUUCUGAUAAUAC{invAb}	341	AGUAUUAUCAAGAUUCUGGGUU	342
1172	UCUUGAUAAUACCUUGUGGA{invAb}	343	UUCCAACAGGUAAUUAUCAAGUU	344
1173	CUUGAUAAUACCUUGUGGA{invAb}	345	AUCCAACAGGUAAUUAUCAAGUU	346
1174	GUUGGAUUCUCCUAGAUUCG{invAb}	347	ACGAUCAUAGGAGAUUCCAACUU	348
1175	CAUUAUCGAAGGUCACUACA{invAb}	349	UUGUAGUGACCUUCGAUAAUGUU	350
1176	UUAUCGAAGGUCACUACAAU{invAb}	351	AAUUGUAGUGACCUUCGAUAAUU	352
1177	GUGUAGCAAGAGGUGUUAUU{invAb}	353	UAAUAACACCUUCUACACUU	354
1178	GUGUUAUUAAGAUUGUACGA{invAb}	355	UUCGUACAUCUAAUAACACUU	356
1179	UGUUAUUAAGAUUGUACGAA{invAb}	357	UUUCGUACAUCUAAUAACAUU	358
1180	GUUAUUAAGAUUGUACGAAA{invAb}	359	UUUUCGUACAUCUAAUAACUU	360
1181	UUAUUAAGAUUGUACGAAAA{invAb}	361	UUUUUCGUACAUCUAAUAAUU	362
1182	UUAGAAUGUUAACGAAAAAAC{invAb}	363	AGUUUUUUCGUACAUCUAAUU	364
1183	UAGAAUGUUAACGAAAAACU{invAb}	365	UAGUUUUUUCGUACAUCUAAUU	366
1184	AGAAUGUUAACGAAAAACUA{invAb}	367	AUAGUUUUUUCGUACAUCUAAUU	368
1185	AAUGUUAACGAAAAACUAUG{invAb}	369	ACAUAGUUUUUUCGUACAUCUAAUU	370
1186	AUGUUAACGAAAAACUAUGG{invAb}	371	ACCAUAGUUUUUUCGUACAUCUAAUU	372
1187	UGUUAACGAAAAACUAUGGU{invAb}	373	AACCAUAGUUUUUUCGUACAUCUAAUU	374
1188	UUACGAAAAACUAUGGUUG{invAb}	375	ACAACCAUAGUUUUUUCGUAAUU	376
1189	UACGAAAAACUAUGGUUGU{invAb}	377	AACAACCAUAGUUUUUUCGUAAUU	378
1190	AAAAACUAUGGUUGUGUCCG{invAb}	379	UCGGACACAACCAUAGUUUUUUU	380
1191	AACUAUGGUUGUGUCCGAGU{invAb}	381	AACUCGGACACAACCAUAGUUUUU	382
1192	AAGGAAUUAUUAAGAAAGCCA{invAb}	383	UUGGCUUUCUAAAUAUUCCUUUU	384
1193	AGGAAUUAUUAAGAAAGCCAA{invAb}	385	UUUGGCUUUCUAAAUAUUCCUUU	386
1194	GGAAUUAUUAAGAAAGCCAAA{invAb}	387	AUUUGGCUUUCUAAAUAUUCCUU	388
1195	UAGAAAGCCAAAGUCAGAAA{invAb}	389	AUUUCUGACUUUGGCUUUCUAAUU	390
1196	AGAAAGCCAAAGUCAGAAAC{invAb}	391	AGUUUCUGACUUUGGCUUUCUAAUU	392
1197	AGCCAAAGUCAGAAACCGGU{invAb}	393	AACCGGUUUCUGACUUUGGCUUU	394
1198	AGCAAGCGUUGUUAACAGCU{invAb}	395	UAGCUGGUACAACGCUUUGCUUU	396

10

20

30

40

【 0 1 7 1 】

50

【表 1 - 6】

1199	GCAAGCGUUGUUACCAGCUA{invAb}	397	AUAGCUGGUAACAACGCUUGCUU	398
1200	AAGCGUUGUUACCAGCUAUA{invAb}	399	AUAUAGCUGGUAACAACGCUUUU	400
1201	AGCGUUGUUACCAGCUAUAC{invAb}	401	AGUAUAGCUGGUAACAACGCUUU	402
1202	GUCCAUAUAGAGUCCAGAA{invAb}	403	UUUCUGGACUCAUUAUUGGACUU	404
1203	CCAUUAUAGAGUCCAGAAAU{invAb}	405	AAUUUCUGGACUCAUUAUUGGUU	406
1204	GAGUCCAGAAUGCAACAGA{invAb}	407	AUCUGUUGCAUUUCUGGACUCUU	408
1205	CUACGAAGGAGGUUGAUUGC{invAb}	409	UGCAAUCAACCUCCUUCGUAGUU	410
1206	ACGAAGGAGGUUGAUUGCAA{invAb}	411	UUUGCAAUCAACCUCCUUCGUUU	412
1207	CUGAGCAUUAUCUAUUCACU{invAb}	413	AAGUGAAUAGAAUAUGCUCAGUU	414
1208	UUCUAUUCACUGCUAGCAAG{invAb}	415	ACUUGCUAGCAGUGAAUAGAAUU	416
1209	CUAUUCACUGCUAGCAAGUC{invAb}	417	AGACUUGCUAGCAGUGAAUAGUU	418
1210	UAUUCACUGCUAGCAAGUCC{invAb}	419	AGGACUUGCUAGCAGUGAAUAAU	420
1211	ACUGCUAGCAAGUCCUGUGC{invAb}	421	AGCACAGGACUUGCUAGCAGUUU	422
1212	CAAGUCCUGUGCCAUUAUGU{invAb}	423	AACAUAUUGGCACAGGACUUGUU	424
1213	AGUCCUGUGCCAUUAUGUCC{invAb}	425	UGGACUAUUGGCACAGGACUUU	426
1214	CAUUAUGUCCACACAUUG{invAb}	427	ACAAUGUGUGUGGACAUAAUGUU	428
1215	UCCACACAUUUGUGGCUUG{invAb}	429	ACAAGCCACAAUGUGUGUGGAUU	430
1216	CAGACACAGGCAGGGAUUG{invAb}	431	UCAAUUCCUGCCUGUGUCUGUU	432
1217	ACACAGGCAGGGAUUGAUC{invAb}	433	AGAUCAAUCCUGCCUGUGUUU	434
1218	GAAUUGAUCUCUCCACAUUG{invAb}	435	ACAAUGUGGAGAGAUCAAUUCUU	436
1219	AGGAAGUCCUGGCUCUGAU{invAb}	437	AAUCACGAGCCAGGACUUCUUU	438
1220	CGUGAUUUUGACCUUGGGUU{invAb}	439	AAACCCCAGGUCAAAUUCACGUU	440
1221	GUGAUUUUGACCUUGGGUUC{invAb}	441	AGAACCCCAGGUCAAAUUCACUU	442
1222	UGAUUUUGACCUUGGGUUCU{invAb}	443	AAGAACCCCAGGUCAAAUUCAUU	444
1223	UUCAGAAGAUGUAGUAAUGC{invAb}	445	UGCAUUACUACAUCUUCUGAAUU	446
1224	UGUAGUAAUGCAUGCCAUAC{invAb}	447	UGUAUGGCAUGCAUUAUACAUU	448
1225	CAUGCCAUAACAGCUGGUGG{invAb}	449	UCCCAGCAGCUGUAUGGCAUGUU	450
1226	CCAUAACAGCUGGUGGAAAU{invAb}	451	AAUUUCCAGCAGCUGUAUGGUU	452
1227	CAUACAGCUGGUGGAAAUU{invAb}	453	AAAUUCCAGCAGCUGUAUGUU	454
1228	GUUUUUUAUACCCCCAGCA{invAb}	455	AUGCUGGGGGUGAUAAAAACUU	456
1229	UUUUUUUAUACCCCCAGCAC{invAb}	457	UGUGCUGGGGGUGAUAAAAAUU	458
1230	UUAUACCCCCAGCACAAU{invAb}	459	AAGUUGUGCUGGGGGUGAUAAUU	460
1231	UAUACCCCCAGCACAAUCG{invAb}	461	ACAGUUGUGCUGGGGGUGAUUUU	462
1232	AUCAGUCUUCGAACUCAACU{invAb}	463	AAGUUGAGUUCGAAGACUGAUUU	464
1233	GUCUUCGAACUCAACUUCUA{invAb}	465	AUAGAAGUUGAGUUCGAAGACUU	466
1234	UCUUCGAACUCAACUUCUAC{invAb}	467	UGUAGAAGUUGAGUUCGAAGAUU	468
1235	CUUCGAACUCAACUUCUACA{invAb}	469	AUGUAGAAGUUGAGUUCGAAGUU	470
1236	CGAACUCAACUUCUACAGCA{invAb}	471	UUGCUGUAGAAGUUGAGUUCGUU	472
1237	AACUCAACUUCUACAGCAAU{invAb}	473	AAUUGCUGUAGAAGUUGAGUUUU	474
1238	AACUUCUACAGCAAUGGGGU{invAb}	475	UACCCCAUUGCUGUAGAAGUUUU	476
1239	CUUCUACAGCAAUGGGGUAC{invAb}	477	AGUACCCCAUUGCUGUAGAAGUU	478
1240	AGCAAUGGGGUACUUAUGU{invAb}	479	AACAUGAAGUACCCCAUUGCUUU	480

【 0 1 7 2 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 7】

1241	GCAAUGGGGUACUUAUGUC{invAb}	481	AGACAUGAAGUACCCCAUUGCUU	482
1242	UACUUAUGUCUUUAUCAUG{invAb}	483	ACAUGAUAAAGACAUGAAGUAUU	484
1243	ACUUAUGUCUUUAUCAUGG{invAb}	485	UCCAUGAUAAAGACAUGAAGUUU	486
1244	UCUUUAUCAUGGAGGCCAUC{invAb}	487	UGAUGGCCUCCAUGAUAAGAUU	488
1245	GCCUUUAUGCAGUUCUGAAC{invAb}	489	UGUUCAGAACUGCAUAAAGGCUU	490
1246	AGCACCCACCUAACCUGAU{invAb}	491	AAUCAGGUUAGGUGGGGUGCUUU	492
1247	CACCCACCUAACCUGAUCA{invAb}	493	AUGAUCAGGUUAGGUGGGGUGUU	494
1248	CCCACCUAACCUGAUCAGCC{invAb}	495	UGGCGAUCAGGUUAGGUGGGUU	496
1249	UGUGCUACCUUCUCUCCAUA{invAb}	497	AAUUGGAGAGAAGGUAGCAUU	498
1250	ACCAUCUCACUGCCUUGCCA{invAb}	499	AUGGCAAGGCAGUGAGAUGGUUU	500
1251	CUGCCUUGCCAGACAUUUUA{invAb}	501	AUAAAUGUCUGGCAAGGCAGUU	502
1252	CAUGAAACAGUAGGAAAGUU{invAb}	503	AAACUUUCCUACUGUUUCAUGUU	504
1253	GAAACAGUAGGAAAGUUUAU{invAb}	505	AAUAAACUUUCCUACUGUUUCUU	506
1254	GUAGGAAAGUUUAUCCAGUA{invAb}	507	AUACUGGAUAAACUUUCCUACUU	508
1255	GUUUUAUCCAGUAUGGCAUUC{invAb}	509	AGAAUGCCAUACUGGAUAAACUU	510
1256	UUCUUAACAGUGGCAGAGCAC{invAb}	511	AGUGCUCUGCCACUGUAAGAAUU	512
1257	UACAGUGGCAGAGCACGAUG{invAb}	513	UCAUCGUGCUCUGCCACUGUAUU	514
1258	GAUGACCAGGAAGAUUAUCAG{invAb}	515	ACUGAUUAUCUCCUGGUAUCUU	516
1259	GAAGAUUAUCAGUCCUAGUCU{invAb}	517	AAGACUAGGACUGAUUAUCUUCUU	518
1260	UAGUCUUGCUGAGCAGCAGU{invAb}	519	AACUGCUGCUCAGCAAGACUAUU	520
1261	UUUGUCUUGGAGAAGUGAUG{invAb}	521	UCAUCACUUCUCCAAGACAAAUU	522
1262	AGGAACAGCGAGAUUGCUAC{invAb}	523	AGUAGCAAUCUCGUGUCCUUU	524
1263	CAGCGAGAUUGCUACCUGAA{invAb}	525	AUUCAGGUAGCAAUCUCGUGUU	526
1264	GCUACCUGAAGGUGAGCCAA{invAb}	527	AUUGGCUCACCUUCAGGUAGCUU	528
1265	CUACCUGAAGGUGAGCCAAU{invAb}	529	AAUUGGCUCACCUUCAGGUAGUU	530
1266	CCUGAAGGUGAGCCAAUCCA{invAb}	531	UUGGAUUGGCUCACCUUCAGGUU	532
1267	GAGACUCCUUGGGCCUUUGC{invAb}	533	AGCAAAGGCCAAGGAGUCUCUU	534
1268	AGAAAUUGUUGCAGUAUAUGC{invAb}	535	AGCAUAUACUGCAACAUUUCUUU	536
1269	GAAAUUGUUGCAGUAUAUGCU{invAb}	537	AAGCAUAUACUGCAACAUUUCUU	538
1270	CAGUAUAUGCUGAGAGUGCC{invAb}	539	UGGCACUCUCAGCAUAUACUGUU	540
1271	UAUUGUCUUGUGAAGAAUGC{invAb}	541	AGCAUUCUUCACAAGACAAUAUU	542
1272	UGAAAAUGUUUAAGGAUAUU{invAb}	543	AAAUUCCUUAACAUUUUCAUU	544
1273	GACCAACAAAAGAGAGUGU{invAb}	545	AACACUCUCUUUUGUUUGGUCUU	546
1274	ACAAAAGAGAGUGUCUGUUU{invAb}	547	AAAACAGACACUCUCUUUGUUU	548
1275	CAAAAGAGAGUGUCUGUUUU{invAb}	549	UAAAACAGACACUCUCUUUGUU	550
1276	GUUUUAGAACUGAGCAGCAC{invAb}	551	AGUGCUGCUCAGUUCUAAAACUU	552
1277	AGAACUGAGCAGCACUUUUC{invAb}	553	AGAAAAGUGCUGCUCAGUUCUUU	554
1278	AGCACUUUUCUACCUCAUUG{invAb}	555	ACAUUGAGGUAGAAAAGUGCUUU	556
1279	UUUCUACCUCAUUGCAACCG{invAb}	557	UCGGUUGCAUUGAGGUAGAAAUU	558
1280	GUUUUGUGGUGCUGUAGGUA{invAb}	559	UUACCUACAGCACCACAAAACUU	560
1281	UUGUGGUGCUGUAGGUAAACG{invAb}	561	ACGUUACCUACAGCACCACAAUU	562
1282	GUGGUGCUGUAGGUAAACGUG{invAb}	563	ACACGUUACCUACAGCACCACUU	564

【 0 1 7 3 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 8】

1283	GGUGCUGUAGGUAACGUGUG{invAb}	565	ACACACGUUACCUACAGACCUU	566
1284	UGCUGUAGGUAACGUGUGGC{invAb}	567	UGCCACACGUUACCUACAGCAUU	568
1285	GGCAAAUGAAGGUCAUGAGA{invAb}	569	AUCUCAUGACCUUCAUUUGCCUU	570
1286	GAUCUGUGAUUUCCAGCU{invAb}	571	AAGCUGGGAAGAUACAGAUUU	572
1287	GCAGAUAAACAUUGGGGGGA{invAb}	573	AUCCCCCAAGUGUUAUCUGCUU	574
1288	AUAACACUUGGGGGGACCUC{invAb}	575	UGAGGUCCCCCAAGUGUUAUUU	576
1289	GACCUCAGCCUCUAUUCGCA{invAb}	577	UUGCGAAUAGAGGCUGAGGUCUU	578
1290	ACCUCAGCCUCUAUUCGCAA{invAb}	579	AUUGCGAAUAGAGGCUGAGGUUU	580
1291	AUAAUCCGUAGACUACAAGA{invAb}	581	AUCUUGUAGUCUACGGAUUUUU	582
1292	CCGUAGACUACAAGAUGAAA{invAb}	583	AUUUCAUCUUGUAGUCUACGGUU	584
1293	UAGACUACAAGAUGAAAUUCU{invAb}	585	AAGAUUUCAUCUUGUAGUCUAUU	586
1294	UUGUUGGUUAUUUAUCUGGU{invAb}	587	AACCAGAUAAUUAACCAACAUU	588
1295	UGUUGGUUAUUUAUCUGGUU{invAb}	589	UAACCAGAUAAUUAACCAACAUU	590
1296	GUUGGUUAUUUAUCUGGUUA{invAb}	591	AUAACCAGAUAAUUAACCAACUU	592
1297	AAAUAAUUGAGUCAUCAUU{invAb}	593	AAAUUGGAGACUCAAUUAUUUUU	594
1298	CUGUCAAUAGUAGCUACAUU{invAb}	595	AAAUUGUAGCUACUUAUUGACAGUU	596
1299	UGUCAAUAGUAGCUACAUUU{invAb}	597	AAAAUGUAGCUACUUAUUGACAUU	598
1300	CAAUAGUAGCUACAUUUUUA{invAb}	599	UUAAAAUGUAGCUACUUAUUGUU	600
1301	GUAGCUACAUUUUUAUUGGG{invAb}	601	UCCCAUUAUUUAUUGUAGCUACUU	602
1302	UAGCUACAUUUUUAUUGGGA{invAb}	603	AUCCCAUUAUUUAUUGUAGCUAUU	604
1303	CAAUUUUAGUUUAGGUCGGG{invAb}	605	UCCCGACCUAAACUAAUUAUUGUU	606
1304	AUUAGUUUAGGUCGGGAACU{invAb}	607	AAGUUCGCGACCUAAACUAAUUU	608
1305	UUAGGUCGGGAACUGAGAUU{invAb}	609	AUAUCUCAGUUCGCGACCUAAUU	610
1306	AGGUCGGGAACUGAGAUUU{invAb}	611	AAAUUCUCAGUUCGCGACCUUUU	612
1307	UCGGGAACUGAGAUUUUGUA{invAb}	613	UUACAUAUCUCAGUUCGCGAUU	614
1308	GGAACUGAGAUUUUGUAUUC{invAb}	615	UGAUUACAUAUCUCAGUUCUUU	616
1309	GAACUGAGAUUUUGUAAUCA{invAb}	617	UUGAUUACAUAUCUCAGUUCUU	618
1310	AACUGAGAUUUUGUAAUCAA{invAb}	619	UUUGAUUACAUAUCUCAGUUUU	620
1311	CUGAGAUUUUGUAAUCAAU{invAb}	621	UAUUUGAUUACAUAUCUCAGUU	622
1312	UAUUGUAAUCAAUAGUUAA{invAb}	623	AUUAACUAAUUAUUAACAUAUU	624
1313	UGUAAUCAAUAGUUAAACAU{invAb}	625	AAUGUUAACUAAUUAUUAACAUU	626
1314	GUAUCAAUAGUUAAACAUC{invAb}	627	UGAUGUUAACUAAUUAUUAACUU	628
1315	UAAUCAAUAGUUAAACAUCA{invAb}	629	AUGAUGUUAACUAAUUAUUAUU	630
1316	AAUAGUUAACAUCAGGAAGU{invAb}	631	AACUUCUGAUGUUAACUAAUUU	632
1317	AUAGUUAACAUCAGGAAGUU{invAb}	633	UAACUUCUGAUGUUAACUAAUUU	634
1318	UAGUUAACAUCAGGAAGUUU{invAb}	635	UUAACUUCUGAUGUUAACUAAUU	636
1319	AGUUAACAUCAGGAAGUUAA{invAb}	637	AUUAACUUCUGAUGUUAACUAAUU	638
1320	AAGUUAUUUUGGCGUGGCAA{invAb}	639	UUUUGCCAGCCAAAUUAACUUUU	640
1321	UAAUUUGGCGUGGCAAUUUC{invAb}	641	AGAAUUUUGCCAGCCAAAUUAUU	642
1322	UCUAGGGAACUUGGCCAGA{invAb}	643	UUCUGGCAAGUUUCCCUAGAUAU	644
1323	UGGCCAGAAAACUGGUGUUG{invAb}	645	UCAACACCAGUUUUCUGGCCAUU	646
1324	UUUAGAACCCUCCUGUUUU{invAb}	647	UAAAACAGGAAGGGUUCUAAAUU	648

【 0 1 7 4 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 9】

1325	AAUCCUCCAACCAAAUAGCA{invAb}	649	AUGCUAUUUGGUUGGAGGAUUUU	650
1326	AGUUUUCCUAAACUUGAUUAG{invAb}	651	ACUAAUCAAGUUAGGAAAACUUU	652
1327	UUUUUCCUAAACUUGAUUAGCU{invAb}	653	AAGCUAAUCAAGUUAGGAAAAUU	654
1328	UCCUAAACUUGAUUAGCUUGA{invAb}	655	AUCAAGCUAAUCAAGUUAGGAUU	656
1329	ACUUGAUUAGCUUGAGCUGA{invAb}	657	AUCAGCUCAAGCUAAUCAAGUUU	658
1330	CUUGAUUAGCUUGAGCUGAC{invAb}	659	UGUCAGCUCAAGCUAAUCAAGUU	660
1331	CUUUCUGUACUGCACACAGA{invAb}	661	AUCUGUGUGCAGUACAGAAAGUU	662
1332	UCUGUACUGCACACAGAUUG{invAb}	663	ACAAUCUGUGUGCAGUACAGAUU	664
1333	CUGUACUGCACACAGAUUGU{invAb}	665	AACAAUCUGUGUGCAGUACAGUU	666
1334	GCACCCAGUCCAGGUGACU{invAb}	667	AAGUCACCGGACUGGGGUGCUU	668
1335	UCGAGUUGUGCCGUGCACA{invAb}	669	AUUGUGCACGGCACAACUCGAUU	670
1336	AGUUGUGCCGUGCACAACCU{invAb}	671	AAGGUUGUGCACGGCACAACUUU	672
1337	GUGCACAACUGUCCAGUAU{invAb}	673	UAUACUGGACAGGUUGUGCACUU	674
1338	UGCACAACUGUCCAGUAUA{invAb}	675	AUAUACUGGACAGGUUGUGCAUU	676
1339	CCUGUCCAGUAUAUGCAUGU{invAb}	677	AACAUGCAUAUACUGGACAGGUU	678
1340	UGGCCCUACUGACUGGUAU{invAb}	679	AAUUACCAGUCAGUAGGGCCAUU	680
1341	GCUUUUGAGGAAAAACCAUGA{invAb}	681	AUCAUGGUUUUUCCUCAAAGCUU	682
1342	AAACCAUGACUUUUAAACAA{invAb}	683	AUUUGUUAAAAGUCAUGGUUUUU	684
1343	ACAAUUUUUUAUGGGUUAUA{invAb}	685	AUAUAACCAUAAAAUUUGUUU	686
1344	UUUUUAUGGGUUAUAUGCCU{invAb}	687	UAGGCAUAUAACCAUAAAAUU	688
1345	UAUGGGUUAUAUGCCUAAAC{invAb}	689	AGUUUAGGCAUAUAACCAUAUU	690
1346	AAUGGUCUGUUAUAUUGG{invAb}	691	ACCAUUUAUGAACAGACCAUUUU	692
1347	GGUCUGUUAUAUUGGUAG{invAb}	693	ACUACCAUUAUGAACAGACCUU	694
1348	CUGUUAUAUUAUGGUAGGUG{invAb}	695	ACACCUACCAUUAUGAACAGUU	696
1349	UAAUUGGUAGGUGCCUUUG{invAb}	697	ACAAAAGGCACCUACCAUUUUU	698
1350	AGUUUACUGUUGCUUAUCUC{invAb}	699	AGAGUAAGCAACAGUAAACUUU	700
1351	UUUUCCAGAUAGUGUUAACA{invAb}	701	AUGUAACACUCAUCUGGAAAAUU	702
1352	AGUACUGAGAAUUAAGUUUG{invAb}	703	ACAAACUUAUUUCUCAGUACUUU	704
1353	GUACUGAGAAUUAAGUUUGU{invAb}	705	UACAAACUUAUUUCUCAGUACUU	706
1354	CUGAUUGAUUUUCACAUUG{invAb}	707	ACAAUGUGAAAUUAUCAAUCAGUU	708
1355	UGAUUGAUUUUCACAUUGU{invAb}	709	UACAAUGUGAAAUUAUCAAUCAUU	710
1356	GUCAGUUGUAGUAGCUCUGA{invAb}	711	AUCAGAGCUACUACAACUGACUU	712
1357	CAGUUGUAGUAGCUCUGAUG{invAb}	713	ACAUCAAGCUACUACAACUGUU	714
1358	GCAUCCAUUUUACUGACUA{invAb}	715	AUAGUCAGUAAAUGGAAUGCUU	716
1359	UUGGCUACAUUUGGAGGAUA{invAb}	717	AUAUCCUCCAAUGUAGCCAAUU	718
1360	AGGAUACCCAGGGAGUCUUG{invAb}	719	ACAAGACUCCUGGGUAUCCUUU	720
1361	GGAUACCCAGGGAGUCUUGG{invAb}	721	ACCAAGACUCCUGGGUAUCCUU	722
1362	AGCAACAUAUUCACUAGUCU{invAb}	723	AAGACUAGUGAAAUGUUUGCUUU	724
1363	ACAUUUCACUAGUCUUUUU{invAb}	725	AAAAAGAGACUAGUGAAUUGUUU	726
1364	UUUUAUCCUUUUAAUUGUA{invAb}	727	UUACAUAUUAAAGGAUGAAAAUU	728
1365	UAAAUUAAGGAUUACUCAAG{invAb}	729	ACUUGAGUAAUCCUAAUUAUUU	730
1366	AAAUUAAGGAUUACUCAAGC{invAb}	731	AGCUUGAGUAAUCCUAAUUAUUU	732

【 0 1 7 5 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 0】

1367	UUAAGGAUUAUCUAGCUA{invAb}	733	AUGAGCUUGAGUAAUCCUAAUU	734
1368	ACUCAAGCUCACCAUUAUUC{invAb}	735	UGAAUAAUGGUGAGCUUGAGUUU	736
1369	UCAAGCUCACCAUUAUCAA{invAb}	737	AUUGAAUAAUGGUGAGCUUGAUU	738
1370	UUUUUUUUUUUUUGGUUGG{invAb}	739	ACCAACCAAAAGGGAAAAUAAUU	740
1371	CAAUUGAUUAUUGCUAGCU{invAb}	741	AAGCUAGCAAAUCAUACAUUGUU	742
1372	UGUAUGAUUUUGCUAGCUCUC{invAb}	743	AGAGAGCUAGCAAAUCAUACUU	744
1373	GCUUUUUUGUAAUUAACUGGU{invAb}	745	AACCAGUUAUUACAAAAAGCUU	746
1374	UUUGUAAUUAACUGGUGCUU{invAb}	747	AAAGCACCAGUUAUUACAAAUU	748
1375	GUAUUUAACUGGUGCUUUGA{invAb}	749	UUCAAGCACCAGUUAUUACUU	750
1376	UUGAAAAUCUUUUUUUAGGG{invAb}	751	UCCCUUAAAAAGAUUUUCAAUU	752
1377	AAAAUCUACCAAGUUAU{invAb}	753	AAUAACUUUGGUUGAGAUUUUUU	754
1378	UCUCAACCAAGUUAUGCUC{invAb}	755	UGAGCAUAACUUUGGUUGAGAUU	756
1379	CAACCAAGUUAUGCUAUC{invAb}	757	AGAUGAGCAUAACUUUGGUUGUU	758
1380	AAAGUUAUGCUAUCCAGAC{invAb}	759	UGUCUGGAGAGCAUAACUUUUU	760
1381	AGUUAUGCUAUCCAGACAA{invAb}	761	AUUGUCUGGAGAGCAUAACUUU	762
1382	GUUAAUUUCAGCACAAUCUA{invAb}	763	AUGAGUUGUGCUGAAUUUAACUU	764
1383	GAUAGCACCGUUUUGCUAAA{invAb}	765	UUUUAGCAAAACGGUGCUAUCUU	766
1384	UAGCACCGUUUUGCUAAAAG{invAb}	767	UCUUUUAGCAAAACGGUGCUAUU	768
1385	AGCACCGUUUUGCUAAAAGA{invAb}	769	AUCUUUUAGCAAAACGGUGCUUU	770
1386	GCACCGUUUUGCUAAAAGAU{invAb}	771	UAUCUUUUAGCAAAACGGUGCUU	772
1387	CACCGUUUUGCUAAAAGAU{invAb}	773	AUAUCUUUUAGCAAAACGGUGUU	774
1388	ACCGUUUUGCUAAAAGAUAC{invAb}	775	UGUAUCUUUUAGCAAAACGGUUU	776
1389	CAUUCUUAUUGUUUUCCAAC{invAb}	777	UGUUGGAAAACAAUGAGAAUGUU	778
1390	AUUCUUAUUGUUUUCCAACA{invAb}	779	AUGUUGGAAAACAAUGAGAAUUU	780
1391	UGUUUUUCCAACAGUGAUGGC{invAb}	781	AGCCAUACUGUUGGAAAACAUU	782
1392	ACAUAAAGGUUAAACAAACUA{invAb}	783	AUAGUUUGUUUAAACCUUAUGUUU	784
1393	CAUAAGGUUAAACAAACUAG{invAb}	785	ACUAGUUUGUUUAAACCUUAUGUU	786
1394	AUAAGGUUAAACAAACUAGG{invAb}	787	ACCUAGUUUGUUUAAACCUUAUUU	788
1395	UAAGGUUAAACAAACUAGGU{invAb}	789	AACCUAGUUUGUUUAAACCUUAUU	790
1396	GUUAAACAAACUAGGUGCUU{invAb}	791	AAAGCACCAGUUUUGUUUAACUU	792
1397	UUAAACAAACUAGGUGCUUG{invAb}	793	ACAAGCACCAGUUUUGUUUAAUU	794
1398	AAUUUAUUACAGUUUACUCU{invAb}	795	UAGAGUAAACUGUAAUAAUUUUU	796
1399	CUGUAACAUGAAAUGCAUGC{invAb}	797	AGCAUGCAUUUACUGUUACAGUU	798
1400	AACAUGAAUGCAUGCCCUU{invAb}	799	AAAGGGCAUGCAUUUACUGUUUU	800
1401	AAAUGAGAAUGUCCUAGUG{invAb}	801	UCACUUAGGACAUUCUAAUUUUU	802
1402	AGAAUGUCCUAGUGAUUCA{invAb}	803	AUGAAUCACUUAGGACAUUCUUU	804
1403	GGAAUGUGUAGAACUGUUA{invAb}	805	UUAACAGUUCUACACAUUUCCUU	806
1404	UUUCACAAAGUCAUGAGGGU{invAb}	807	UACCCUCAUGACUUUGUGAAAUU	808
1405	AGCACUCCAUGUAAUAUGAG{invAb}	809	ACUCAUAUUACAUGGAGUGCUUU	810
1406	UGUAAUAUGAGUGCUCUGUG{invAb}	811	UCACAGAGCACUCAUUAUACA UU	812
1407	UAUGAGUGCUCUGUGAGAUG{invAb}	813	ACAUCUCACAGAGCACUCAUAAU	814
1408	GUUUUAUAGAAUUGGUGUUG{invAb}	815	ACAACACCAUUUCUAUAAAACUU	816

【 0 1 7 6 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 1】

1409	UUUUUAUAGAAUUGGUGUUGC{invAb}	817	AGCAACACCAUUUCUAAAAUU	818
1410	UAUGUUAGAUAGUUCUUAA{invAb}	819	AUUAAAGAACUACUACAUAUU	820
1411	AUAGUUCUUUAAGGAGACAA{invAb}	821	UUUGUCUCCUUAAAGAUAUUU	822
1412	UUCUUUAAGGAGACAAAACG{invAb}	823	ACGUUUUGUCUCCUAAAGAAUU	824
1413	UUAAGGAGACAAACGGUAA{invAb}	825	AUUACCGUUUUGUCUCCUAAUU	826
1414	AGACAAAACGGUAAUGAACAA{invAb}	827	AUGUUCAUUAACGUUUUGUCUUU	828
1415	GUUGAAUAGAUUGUGUAUUUC{invAb}	829	AGAAAUACACAUUAUUCAACUU	830
1416	UAAUGUAGGUGAUCGGAGCU{invAb}	831	AAGCUCGGAUCACCUACAUAUU	832
1417	UGAUCGGAGCUCUUUCCUUU{invAb}	833	AAAAGGAAAGAGCUCCGAUCAUU	834
1418	GAGCUCUUUCCUUUGAUAGA{invAb}	835	AUCUAUCAAAGGAAAGAGCUCUU	836
1419	UGUAGCAAGAGGUGUUAUUA{invAb}	837	AUAAUAACACCUUUGCUACAUU	838
1420	GUUACGAAAAACUAUGGUU{invAb}	839	AAACCAUAGUUUUUUCGUAACUU	840
1421	ACUAUGGUUGUGUCCGAGUG{invAb}	841	ACACUCGGACACAACCAUAGUUU	842
1422	AUAUUUAGAAAGCCAAAGUC{invAb}	843	UGACUUUGGCUUUCUAAAAUUU	844
1423	GUUUUCCAACAGUGAUGGCU{invAb}	845	AAGCCAUCACUGUUGGAAAACUU	846
1424	UAUUGACUAUCUGCUGCUCA{invAb}	847	AUGAGCAGCAGAUAGUCAAUUU	848
1425	AUCAAGACCAUACAUUGC{invAb}	849	AGCAAGUAUGGUGCUUUGAUUU	850
1426	AAAGCACCAUACAUUGCUC{invAb}	851	UGAAGCAUGUAUGGUGCUUUUU	852
1427	ACCUUGAUCCAUAAGCUUGG{invAb}	853	ACCAAGCUUAUGGAUCAAGGUUU	854
1428	CCAUAAGCUUGGGGGCUUCU{invAb}	855	AAGAAGCCCCAAGCUUAUGGUU	856
1429	UUCAUACGACGAAGGCUCGA{invAb}	857	AUCGAGCCUUCGUCGUAGAAUU	858
1430	UCAUACGACGAAGGCUCGAU{invAb}	859	AAUCGAGCCUUCGUCGUAGAUU	860
1431	ACGACGAAGGCUCGAUGAAA{invAb}	861	AUUUCAUCGAGCCUUCGUCGUUU	862
1432	GAUGAAACACCAGAUUGGACG{invAb}	863	ACGUCCAUCUGGUGUUUCAUCUU	864
1433	GAAACACCAGAUUGGACGGAA{invAb}	865	UUUCCGUCCAUCUGGUGUUUCUU	866
1434	AUAGAGCUUUGCUCCAUGGG{invAb}	867	ACCCAUGGAGCAAAGCUCUAUUU	868
1435	UCCAUGGGCAUAUAGUUGAA{invAb}	869	AUUCAACUAUAUGCCCAUGGAUU	870
1436	AUGGGCAUAUAGUUGAAUUA{invAb}	871	AUAAUUAACUAUAUGCCCAUUU	872
1437	AUAUAGUUGAAUUAUUCGA{invAb}	873	AUCGAAGUAAUUAACUAUAUUU	874
1438	AUUUCUGGGAUUACAAGAA{invAb}	875	AUUCAUUGUAAUCCAGAAAUUU	876
1439	CUGUGAGAUUGUUAUCAGUG{invAb}	877	ACACUGAUGAACAUUCACAGUU	878
1440	GAAACUUAACAUGCACUUUA{invAb}	879	AUAAAGUGCAUUGUAAGUUUCUU	880
1441	CUUACAAUGCACUUUAGCGC{invAb}	881	UGCUCUAAAGUGCAUUGUAAGUU	882
1442	UUACAAUGCACUUUAGCGCA{invAb}	883	AUGCGCUAAAGUGCAUUGUAUUU	884
1443	ACAAUGCACUUUAGCGCAGU{invAb}	885	UACUGCGCUAAAGUGCAUUGUUU	886
1444	UGCACUUUAGCGCAGUAAGG{invAb}	887	ACCUUACUGCGCUAAAGUGCAUU	888
1445	GCACUUUAGCGCAGUAAGGG{invAb}	889	ACCCUACUGCGCUAAAGUGCUU	890
1446	UUUAGCGCAGUAAGGGCUUG{invAb}	891	ACAAGCCCUUACUGCGCUAAUUU	892
1447	UUAGCGCAGUAAGGGCUUGG{invAb}	893	ACCAAGCCCUUACUGCGCUAAUU	894
1448	CGCAGUAAGGGCUUGGCAUC{invAb}	895	AGAUGCCAAGCCCUUACUGCGUU	896
1449	ACCCAGCAUUGCCCAAACUA{invAb}	897	AUAGUUUGGGCAAUGCUGGGUUU	898
1450	AUUGCCCAAACUAUUUUGAC{invAb}	899	UGUCAAUAUAGUUUGGGCAAUUU	900

【 0 1 7 7 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 2】

1451	UUGCCCAAACUAAUUUGACA{invAb}	901	AUGUCAAUAAGUUUGGGCAAUU	902
1452	UGUUAGAUAGUUCUUUAAGG{invAb}	903	UCCUAAAGAACUAUCUAACAUU	904
1453	UAGGUGAUCGGAGCUCUUUC{invAb}	905	AGAAAGAGCUCCGAUCACCUAUU	906
1454	AGGUGAUCGGAGCUCUUUC{invAb}	907	AGGAAAGAGCUCCGAUCACCUUU	908
1455	UAUAGUUGAAUACUUCGAC{invAb}	909	UGUCGAAGUAAUUAACUAUAUU	910
1456	UGAAUUAUCUUCGACAGCAGC{invAb}	911	UGCUGCUGUCGAAGUAAUUAUU	912
1457	AAUUAUCUUCGACAGCAGCAA{invAb}	913	AUUGCUGCUGUCGAAGUAAUUUU	914
1458	UUCGACAGCAGCAAUUCUUG{invAb}	915	ACAAGAAUUGCUGCUGUGCAAUU	916
1459	UCUUCUGGAAGGCACACGU{invAb}	917	AACGUGUGCCUUCAGGAAGAUU	918
1460	UUUGUCAGUUGUGGUAUAUA{invAb}	919	AUAUCUACCACAACUGACAAAUU	920
1461	GUCCACACACAUGUGGCUU{invAb}	921	AAAGCCACAAGUGUGUGGACUU	922
1462	CUCGUGAUUUUGACCUUGGG{invAb}	923	ACCCAGGUCAAAAUCACGAGUU	924
1463	GUUGAAGGCUUUUGCUUAUA{invAb}	925	AUAUGAGCAAAAGCCUUAACUU	926
1464	UAUUUAGAACCCUUCUGUUU{invAb}	927	AAACAGGAAGGGUUCUAAAUUU	928
1465	AUUUAGAACCCUUCUGUUU{invAb}	929	AAAACAGGAAGGGUUCUAAAUUU	930
1466	UUCUGUUUUUUGUCUGUAC{invAb}	931	AGUACAGACAUAAAACAGGAUU	932
1467	CAGGUACAGCUGUUUCUUGG{invAb}	933	UCCAAGAAACAGCUGUACCUUU	934
1468	GGAAAUCCUCCAAACAAUA{invAb}	935	AUAUUUGGUUGGAGGAUUUCCUU	936
1469	GUUUUCCUAAACUUGAUUAGC{invAb}	937	AGCUAAUCAAGUUGGAAAACUU	938
1470	UUCCUAACUUGAUUAGCUUG{invAb}	939	UCAAGCUAAUCAAGUUGGAAUU	940
1471	CCUAAUCUGAUUAGCUUGAG{invAb}	941	ACUCAAGCUAAUCAAGUUGGUU	942
1472	UUGAUUAGCUUGAGCUGACA{invAb}	943	AUGUCAGCUAAGCUAAUCAAUU	944
1473	GCUUUCUGUACUGCACACAG{invAb}	945	UCUGUGUGCAGUACAGAAAGCUU	946
1474	GCACACAGAUUGUGUACUGC{invAb}	947	UGCAGUACACAAUCUGUGUGCUU	948
1475	CGUGCACAACCUUGCAGUA{invAb}	949	AUACUGGACAGGUUGUGCACGUU	950
1476	CAGUAUUGCAUGUGGUGGC{invAb}	951	AGCCACCACAUGCAUAUACUGUU	952
1477	ACCAUGACUUUUAACAAAUU{invAb}	953	AAAUUUGUUAAGUUAUGGUUU	954
1478	ACAUAGUGGUAAAUAUUUAU{invAb}	955	AAUAUUUAUUUACCACUAUGUUU	956
1479	CAUAGUGGUAAAUAUUUAUG{invAb}	957	UCAUAUUUAUUUACCACUAUGUU	958
1480	GUCUGUUAUAAUUGGUAGG{invAb}	959	ACCUACCAAUUAUGAACAGACUU	960
1481	AUUUUUCCAGAUAGUGUUA{invAb}	961	AUAACACUACUCGGAAAAUUU	962
1482	GGGAUGCUGAUUGAUUUUC{invAb}	963	UGAAAUUAUAAUCAGCAUCCUU	964
1483	UUGAUUUUACAUUGUAUG{invAb}	965	UCAUACAAGUGAAAUUAUCAAUU	966
1484	UCUCAAGUUCUGCAUUUAAA{invAb}	967	UUUUAAAUGCAGAACUUGAGAUU	968
1485	UUCCAUUUACUGACUAGGG{invAb}	969	ACCCUAGUCAGUAAAUGGAAUU	970
1486	UCCAUUUUACUGACUAGGGU{invAb}	971	UACCCUAGUCAGUAAAUGGAAUU	972
1487	AAGUUUAUCCAGUAUGGCAU{invAb}	973	AAUGCCAUAUCUGGAUAAACUUU	974
1488	UUUAUCCAGUAUGGCAUUCU{invAb}	975	AAGAAUGCCAUAUCUGGAUAAAUU	976
1489	ACAGCGAGAUUGCUACCUGA{invAb}	977	UUCAGGUAGCAAUCUCGCUGUUU	978
1490	CAGUUUAUACCUUCUACA{invAb}	979	AUGUAAGAAGGUGAUAAACUGUU	980
1491	CUUACAGAGACUCCUUGGGC{invAb}	981	AGCCCAAGGAGUCUCUGUAAGUU	982
1492	AAAGAGAGUGUCUGUUUAG{invAb}	983	UCUAAAACAGACACUCUCUUUUU	984

【 0 1 7 8 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 3】

1493	CGACAAAACUUCUAGAAUA{invAb}	985	AUAUUCUAGAAGUUUUUGUCGUU	986
1494	AUAUAUUCUGAGUUUUGUGG{invAb}	987	ACCACAAAACUCAGAAUAUAUUU	988
1495	UUUGUGGUGCUGUAGGUAAC{invAb}	989	AGUUACCUACAGCACCACAAUU	990
1496	UGUGGUGCUGUAGGUAACGU{invAb}	991	AACGUUACCUACAGCACCACAUU	992
1497	GUGCUGUAGGUAACGUGUGG{invAb}	993	ACCACACGUUACCUACAGCACUU	994
1498	UGCAGAUAAACUUGGGGGG{invAb}	995	UCCCCCAAGUGUUAUCUGCAUU	996
1499	GAACAGCCCCAAUGAUCCUG{invAb}	997	ACAGGAUCAUUGGGGCGUUCUU	998
1500	AAUGAUCCUGGCUUUUUCAC{invAb}	999	AGUGAAAAAGCCAGGAUCAUUUU	1000
1501	CGUAUCAGAAUACAUGGAGU{invAb}	1001	UCAUCCAUGUAUUCUGAUACGUU	1002
1502	ACAUGACAGGACCUAUCGUU{invAb}	1003	AAACGAUAGGUCCUGUCAUUUU	1004
1503	UGACAGGACCUAUCGUUGAG{invAb}	1005	ACUCAACGAUAGGUCCUGUCAUU	1006
1504	AGGACCUAUCGUUGAGGUUU{invAb}	1007	AAAACCUCAACGAUAGGUCCUUU	1008
1505	UCUAAGACUUAUAUGGGCU{invAb}	1009	AAGCCCAUAGUAAGUCUUAAGUU	1010
1506	AAGACUUAUAUGGGCUGUA{invAb}	1011	UUACAGCCCAUAGUAAGUCUUUU	1012
1507	AGACUUAUAUGGGCUGUAA{invAb}	1013	UUUACAGCCCAUAGUAAGUCUUU	1014
1508	GACUUAUAUGGGCUGUAAA{invAb}	1015	AUUUACAGCCCAUAGUAAGUCUU	1016
1509	UAUUUAGAAACUGAGACU{invAb}	1017	AAGUCUCAGGUUUUCAAUAUUU	1018
1510	CAUUUGAAAGAGAUUCUUGA{invAb}	1019	AUCAAGAAUCUCUUCAAUGUUU	1020
1511	AAAGAGAUUCUUGACCUUAU{invAb}	1021	AAUAAGGUCAAGAAUCUCUUUUU	1022
1512	AAGAGAUUCUUGACCUUAUU{invAb}	1023	AAUAAGGUCAAGAAUCUCUUUUU	1024
1513	CUUGAUGGAAGGUUAUAAAC{invAb}	1025	AGUUUAAUACCUUCCAUAAGUU	1026
1514	UUGAUGGAAGGUUAUAAACU{invAb}	1027	UAGUUUAAUACCUUCCAUAAGUU	1028
1515	UAUUAACUAUUUGCCUGUU{invAb}	1029	AAACAGGCAAAUAGUUUAUAUU	1030
1516	GUGUAUUGCAAGAAACACAG{invAb}	1031	UCUGUGUUUCUUGCAAUACACUU	1032
1517	AGAAAAUCUCAACCAAAGU{invAb}	1033	AACUUUGGUUGAGAUUUUUCUUU	1034
1518	GAUAACACUUGGGGGGACCU{invAb}	1035	AAGGUCCCCCAAGUGUUAUCUU	1036
1519	UGAGUUUAUUAAGAUUGAC{invAb}	1037	UGUCAUCUUUAUAAACUCAUU	1038
1520	AAAGAUUGACAUUUUAAGUA{invAb}	1039	AUACUUAUUAAGUCAAUUUUUU	1040
1521	AAGAUUGACAUUUUAAGUAC{invAb}	1041	UGUACUUAUUAAGUCAAUUUUUU	1042
1522	UAUUUUGUUGGUUAUUAUC{invAb}	1043	AGAUAAUAUACCAACAAUAUUU	1044
1523	GUUCAUAGAUCCCAUAUUGA{invAb}	1045	AUCAAUUAGGGAUCUAUGAACUU	1046
1524	AGCAUUGCCCAACUAUUUU{invAb}	1047	AAAAUAGUUUGGGCAAUGCUUU	1048
1525	AAAGCCAAAGUCAGAAACCG{invAb}	1049	ACGGUUUCUGACUUUGGCUUUUU	1050
1526	GCGGAUUGUUAUUUAUAUCA{invAb}	2101	UUGAUUAUUAUAAUAUCCGCUU	2102
1527	CAGCGAGAUUGCUACCGAA{invAb}	2103	AUUCAGGUAGCAAUUCGCGUUU	2104
1528	ACGAUUUUGCCGCUUCUGUU{invAb}	2105	AAACAGAAGCGGCAAAUUCGUUU	2106
1529	ACCUCAGCCUCUAUUCGCAA{invAb}	2107	AUUGCGAAUAGAGGCUGAGGUUU	2108
1530	AUCAAAGCCGUUAACAAAG{invAb}	2109	ACUUUGUUAACGGCUUUUGAUUU	2110
1531	UAGCUACAUUUUUAUUGGA{invAb}	2111	AUCCCAUUAUUAUUGUAGCUUU	2112
1532	UUCAGAAGAUGUAGUAAUGC{invAb}	2113	UGCAUUACUACAUUCUGAAUU	2114
1533	AGCGUUGUUAACAGCUAUAC{invAb}	2115	AGUAUAGCUGGUAAACGCUUU	2116
1534	GUGUUAUUAGAAUGUUAACGA{invAb}	2117	UUCGUAAAUUCUAAUAACACUU	2118

【 0 1 7 9 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 4】

1535	UCCUAAUCUAGAUUAGCUUGA{invAb}	2119	AUCAAGCUAAUCAAGUUGGAUU	2120
1536	CAUAUAGUUGAAUUAUCUUCG{invAb}	2121	UCGAAGUAAUUAACUAUAUGUU	2122
1537	GGGCAUAUAGUUGAAUUAU{invAb}	2123	AAGUAAUUAACUAUAUGCCUU	2124
1538	UGUCAUCCAGACAUCUUGA{invAb}	2125	AUCAAGAUGUCUGGGAUGACAUU	2126
1539	UACGAAAAACUAUGGUUGU{invAb}	2127	AACAACCAUAGUUUUUUCGUUU	2128
1540	CUGCCUUGCCAGACAUUUUA{invAb}	2129	AUAAAUGUCUGGCAAGGCAGUU	2130
1541	UUUUGUCAGUUGUGGUAGAU{invAb}	2131	UAUCUACCACACUGACAAAAUU	2132
1542	AGAAUGUUACGAAAAACUA{invAb}	2133	AUAGUUUUUUCGUAACAUUCUUU	2134
1543	UGUAAUAUGAGUGCUCUGUG{invAb}	2135	UCACAGAGCACUAUAUUAUUAU	2136
1544	CACUUUGUGACAUUGGAUGAA{invAb}	2137	AUUCAUCCAUGUCACAAAGUGUU	2138
1545	AUUUGGGAAUUAACUUUGU{invAb}	2139	AACAAAGUGUAAUCCCAAUUU	2140
1546	AUAGCUGAGUCCUGAAGUUU{invAb}	2141	AAAACUUCAGGACUCAGCUUUU	2142
1547	CUGACCCUUGGUACAUAAGA{invAb}	2143	AUCUAUUGUACCAAGGGUCAGUU	2144
1548	UAAUCGACUGAUUGGAAUAU{invAb}	2145	UUUUUCCAAUCAGUCGAUUUUU	2146
1549	AACUGAUAGCUGAGUCCUGA{invAb}	2147	UUCAGGACUCAGCUAUCAGUUUU	2148
1550	CAGCACAUGAUUUUGGAAUU{invAb}	2149	UAAUCCCAAUCAUGUCUGUU	2150
1551	ACAUGAUUUUGGAAUUAAC{invAb}	2151	AGUGUAAUCCCAAUCAUGUUU	2152
1552	CAGAAUACAGUUGUGUCGA{invAb}	2153	AUCGACCAACACUGUAUUCUGUU	2154
1553	CCCAGACAUUCUGAUAAUAC{invAb}	2155	AGUAUUUAAGAUGUCUGGGUU	2156
1554	UCUUGAUAAUACUGUUGGA{invAb}	2157	UCCAACAGGUAAUUAAGAUAU	2158
1555	UGUUUAUAGAAUGUACGAA{invAb}	2159	UUUCGUAACAUUCUAAUAACAUU	2160
1556	UGUUACGAAAAACUAUGGU{invAb}	2161	AACCAUAGUUUUUUCGUAACAUU	2162
1557	UUACGAAAAACUAUGGUUG{invAb}	2163	ACAACCAUAGUUUUUUCGUAAUU	2164
1558	AGGAAUAUUUAGAAAGCCAA{invAb}	2165	UUUGGCUUUUUAUUUUUUUUU	2166
1559	ACGAAGGAGGUUGAUUGCAA{invAb}	2167	UUUGCAAUCAACCUCCUUCGUUU	2168
1560	UGUUUUCCAACAGUGAUGGC{invAb}	2169	AGCCAUCACUGUUGGAAAACAUU	2170
1561	CAUAAGGUUAAACAAACUAG{invAb}	2171	ACUAGUUUGUUAAACCUUAUGUU	2172
1562	GGACGGAAGAGUUGUCUUA{invAb}	2173	AUAGAGAACAUCUUUCCGUCCUU	2174
1563	GGAAUUGUGUAGAACUGUUA{invAb}	2175	UUAACAGUUCUACACAUUUCCUU	2176
1564	AUAGUUGAAUUAUCUUGACA{invAb}	2177	AUGUCGAAGUAAUUAACUAUUU	2178
1565	UCUUCGAACUCAACUUCUAC{invAb}	2179	UGUAGAAGUUGAGUUCGAAGAUU	2180
1566	CUUCGAACUCAACUUCUACA{invAb}	2181	AUGUAGAAGUUGAGUUCGAAGUU	2182
1567	UUCUGUUUUUAGUCUGUAC{invAb}	2183	AGUACAGACAUAAAACAGGAUU	2184
1568	CAGGUACAGCUGUUUCUUGG{invAb}	2185	UCCAAGAAACAGCUGUACCGUU	2186
1569	CCUAAUCUAGUUAAGCUUGAG{invAb}	2187	ACUCAAGCUAAUCAAGUUGAGUU	2188
1570	CGUGCACAACCUUGCCAGUA{invAb}	2189	AUACUGGACAGGUUGUGCACGUU	2190
1571	CAGUAUAUGCAUGUGGUGGC{invAb}	2191	AGCCACCACAUCAUAUACUGUU	2192
1572	ACCAUGACUUUUAACAAAUU{invAb}	2193	AAAUUUGUUAAGUUAUGGUUU	2194
1573	ACAUAGUGGUAAAUAUUUAU{invAb}	2195	AAUAAUUAUUUACCACUAUGUUU	2196
1574	CAUAGUGGUAAAUAUUUAUG{invAb}	2197	UCAUAAUUAUUUACCACUAUGUU	2198
1575	AUUUUUCCAGAUAGUGUUA{invAb}	2199	AUAACACUCAUCUGGAAAAUUU	2200
1576	GGGAUGCUGAUUGAUUUUC{invAb}	2201	UGAAAUUAUCAAGCAUCCUUU	2202

【 0 1 8 0 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 5】

1577	UCUCAAGUUCUGCAUUUAAA{invAb}	2203	UUUUAAAUGCAGAACUUGAGAUU	2204
1578	UUCCAUUUUACUGACUAGGG{invAb}	2205	ACCCUAGUCAGUAAAUGGAAUU	2206
1579	CAGUUUAUACCUUUCUACA{invAb}	2207	AUGUAAGAAGGUGAUAAACUGUU	2208
1580	CGACAAAACUUCUAGAAUA{invAb}	2209	AUAUUCUAGAAGUUUUUGUCGUU	2210
1581	AUAUAUUCUGAGUUUUUGUGG{invAb}	2211	ACCACAAAACUCAGAAUAUAUUU	2212
1582	AAUGAUCCUGGCUUUUUCAC{invAb}	2213	AGUGAAAAAGCCAGGAUCAUUUU	2214
1583	UGACAGGACCUAUCGUUGAG{invAb}	2215	ACUCAACGAUAGGUCCUGUCAUU	2216
1584	UAUGGGUUUAUAGCCUAAAC{invAb}	2217	AGUUUAGGCAUAUAACCAUAUU	2218
1585	UAAUUGGUAGGUGCCUUUUG{invAb}	2219	ACAAAAGGCACCUACCAUAUUU	2220
1586	ACUAUGGUUGUGUCCGAGUG{invAb}	2221	ACACUCGGACACAACCAUAGUUU	2222
1587	AAGACUUAUAUGGGCUGUA{invAb}	2223	UUACAGCCCAUAGUAAGUCUUUU	2224
1588	GACUUAUAUGGGCUGUAAA{invAb}	2225	AUUUACAGCCCAUAGUAAGUCUU	2226
1589	UAAAUUAAGGAUUACUACAG{invAb}	2227	ACUUGAGUAAUCCUAAUUUAUU	2228
1590	CAACCAAAGUUUAGCUCAUC{invAb}	2229	AGAUGAGCAUAACUUUGGUUGUU	2230
1591	UAGACUACAAGAUGAAAUCU{invAb}	2231	AAGAUUUCAUCUUGUAGUCUAUU	2232
1592	CAAUAGUAGCUACAUUUUUA{invAb}	2233	UUAAAAAUGUAGCUACUAUUUGUU	2234
1593	AAAAGCCGUUAACAAAGUGA{invAb}	2235	UUCACUUUGUUACCGCUUUUUU	2236
1594	AAAGCCGUUAACAAAGUGAA{invAb}	2237	UUUCACUUUGUUACCGCUUUUUU	2238
1595	CAUAGAUCCAUAUUGACUA{invAb}	2239	AUAGUCAUAUGGGAUCUAUGUU	2240
1596	ACCUUGAUCCAUAAGCUUGG{invAb}	2241	ACCAAGCUUAUGGAUCAAGUUU	2242
1597	UUCAUACGACGAAGGCUCGA{invAb}	2243	AUCGAGCCUUCGUCGUUAUGAAUU	2244
1598	UCCAUGGGCAUAUAGUUGAA{invAb}	2245	AUUCAACUAUAUGCCAUUGGAUU	2246
1599	AUGGGCAUAUAGUUGAAUUA{invAb}	2247	AUAAUUAACUAUAUGCCAUUUU	2248
1600	AUAUAGUUGAAUUAUCUUGA{invAb}	2249	AUCGAAGUAAUUAACUAUAUUU	2250
1601	CUUACAAUGCACUUUAGCGC{invAb}	2251	UGCGCUAAAGUGCAUUGUAAGUU	2252
1602	UUACAAUGCACUUUAGCGCA{invAb}	2253	AUGCGCUAAAGUGCAUUGUAUUU	2254
1603	ACAAUGCACUUUAGCGCAGU{invAb}	2255	UACUGCGCUAAAGUGCAUUGUUU	2256
1604	UUUAGCGCAGUAAGGGCUUG{invAb}	2257	ACAAGCCCUUACUGCGCUAAAUU	2258
1605	AUUGCCCAACUAUUUUGAC{invAb}	2259	UGUCAAAUAGUUUGGGCAUUUU	2260
1606	AGGUGAUCGGAGCUCUUUCC{invAb}	2261	AGGAAAGAGCUCCGAUCACCUUU	2262
1607	UAUAGUUGAAUUAUUCGAC{invAb}	2263	UGUCGAAGUAAUUAACUAUAUU	2264
1608	UGAAUUAUUCGACAGCAGC{invAb}	2265	UGCUGCUGUCGAAGUAAUUAUU	2266
1609	UUUGUCAGUUGUGGUAGAU{invAb}	2267	AUAUCUACCACAACUGACAAUUU	2268
1610	CUUGAUGGAAGGUUUAAC{invAb}	2269	AGUUUAAUACCUUCCAUAAGUU	2270
1611	GUGUAUUGCAAGAAACACAG{invAb}	2271	UCUGUGUUUCUUGCAUAACAUU	2272
1612	AGAAAAUCUAACCAAAGU{invAb}	2273	AACUUUGGUUGAGAUUUUUCUUU	2274
1613	AAGAAAGCCUAAUGAGUCGG{invAb}	2275	UCCGACUAUUAAGGUUUUUUUU	2276
1614	UGCGGAUUGUUUUUAUAUC{invAb}	2277	UGAUUAAAAUAACAUUCCGCAUU	2278
1615	UUAUUAAGAGCGAGAUUG{invAb}	2279	ACACAUCUCGCUUUGAAUAAUU	2280
1616	AAGAGCGAGAUUGCAUAAG{invAb}	2281	ACUUAUGCACAUCUCGCUUUUU	2282
1617	AUGUUUGCCACCAAUGUGAC{invAb}	2283	AGUCACAUUGGUGGCAACAUUU	2284
1618	ACAUGAUUUGGGAUUACAC{invAb}	2285	AGUGUAAUCCCAAUAUGUUU	2286

【 0 1 8 1】

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 6】

1619	AUGAUUUUGGGAUUACAC{invAb}	2287	AGUGUAAUCCCAAUUAUUU	2288
1620	ACAUGAUUUUGGGAUUACAC{invAb}	2289	AGUGUAAUCCCAAUUAUUU	2290
1621	AUGAUUUUGGGAUUACAC{invAb}	2291	AGUGUAAUCCCAAUUAUUU	2292
1622	AUUUUUCCAGAUAGUGUUA{invAb}	2293	AUAACACUCAUCUGGAAAAUUU	2294
1623	UUUUCAGAUAGUGUUA{invAb}	2295	AUAACACUCAUCUGGAAAAUU	2296
1624	UUUUCAGAUAGUGUUA{invAb}	2297	AUAACACUCAUCUGGAAAAUU	2298
1625	AUUUUUCCAGAUAGUGUUA{invAb}	2299	AUAACACUCAUCUGGAAAAUUU	2300
1626	ACCAUGACUUUUAACAAAUU{invAb}	2301	AAAUUUGUUAAGUCAUGUUU	2302
1627	CAUGACUUUUAACAAAUU{invAb}	2303	AAAUUUGUUAAGUCAUGUU	2304
1628	CAUGACUUUUAACAAAUU{invAb}	2305	AAAUUUGUUAAGUCAUGUU	2306
1629	ACCAUGACUUUUAACAAAUU{invAb}	2307	AAAUUUGUUAAGUCAUGUUU	2308
1630	UAGCUACAUUUUAAUGGGA{invAb}	2309	AUCCCAUUAAGUAGCUAUU	2310
1631	GCUACAUUUUAAUGGGA{invAb}	2311	AUCCCAUUAAGUAGCUU	2312
1632	GCUACAUUUUAAUGGGA{invAb}	2313	AUCCCAUUAAGUAGCUU	2314
1633	UAGCUACAUUUUAAUGGGA{invAb}	2315	AUCCCAUUAAGUAGCUAUU	2316
1634	UCUCAAGUUCGCAUUUAAA{invAb}	2317	UUUUAAAUGCAGAACUUGAGAUU	2318
1635	UCAAGUUCGCAUUUAAA{invAb}	2319	UUUUAAAUGCAGAACUUGAUU	2320
1636	UCAAGUUCGCAUUUAAA{invAb}	2321	UUUUAAAUGCAGAACUUGAUU	2322
1637	UCUCAAGUUCGCAUUUAAA{invAb}	2323	UUUUAAAUGCAGAACUUGAGAUU	2324
1638	AACUGAUAGCUGAGUCCUGA{invAb}	2325	UUCAGGACUCAGCUAUCAGUUU	2326
1639	CUGAUAGCUGAGUCCUGA{invAb}	2327	UUCAGGACUCAGCUAUCAGUU	2328
1640	CUGAUAGCUGAGUCCUGA{invAb}	2329	UUCAGGACUCAGCUAUCAGUU	2330
1641	AACUGAUAGCUGAGUCCUGA{invAb}	2331	UUCAGGACUCAGCUAUCAGUUU	2332
1642	UCUUGAUAAUACUGUUGGA{invAb}	2333	UCCAACAGGUAAUUAAGAUU	2334
1643	GUGUUAUUAAGAUUACGA{invAb}	2335	UUCGUAACAUUCUAAUACACUU	2336
1644	UAUAGUUGAAUUAUUCGAC{invAb}	2337	UGUCGAAGUAAUUAACUUAUU	2338
1645	CACUUUGUGACAUUGAUGAA{invAb}	2339	AUUCAUCCAUGUCACAAAGUGUU	2340
1646	UGUCAUCCAGACAUUUGA{invAb}	2341	AUCAAGAUUCUGGGAUGACAUU	2342
1647	UCUUGAUAAUACUGUUGGA{invAb}	2343	UCCAACAGGUAAUUAAGAUU	2344
1648	GUGUUAUUAAGAUUACGA{invAb}	2345	UUCGUAACAUUCUAAUACACUU	2346
1649	UAUAGUUGAAUUAUUCGAC{invAb}	2347	UGUCGAAGUAAUUAACUUAUU	2348
1650	CACUUUGUGACAUUGAUGAA{invAb}	2349	AUUCAUCCAUGUCACAAAGUGUU	2350
1651	UGUCAUCCAGACAUUUGA{invAb}	2351	AUCAAGAUUCUGGGAUGACAUU	2352
1652	UUGAUAAUACUGUUGGA{invAb}	2353	UCCAACAGGUAAUUAAGAUU	2354
1653	GUUAAUAGAAUGUACGA{invAb}	2355	UUCGUAACAUUCUAAUACCUU	2356
1654	UAGUUGAAUUAUUCGAC{invAb}	2357	UGUCGAAGUAAUUAACUUAUU	2358
1655	CUUUGUGACAUUGAUGAA{invAb}	2359	AUUCAUCCAUGUCACAAAGUU	2360
1656	UCAUCCAGACAUUUGA{invAb}	2361	AUCAAGAUUCUGGGAUGAUU	2362
1657	UUGAUAAUACUGUUGGA{invAb}	2363	UCCAACAGGUAAUUAAGAUU	2364
1658	GUUAAUAGAAUGUACGA{invAb}	2365	UUCGUAACAUUCUAAUACCUU	2366
1659	UAGUUGAAUUAUUCGAC{invAb}	2367	UGUCGAAGUAAUUAACUUAUU	2368
1660	CUUUGUGACAUUGAUGAA{invAb}	2369	AUUCAUCCAUGUCACAAAGUU	2370

10

20

30

40

【 0 1 8 2 】

50

【表 1 - 1 7】

1661	UCAUCCAGACAUCUUGA{invAb}	2371	AUCAAGAUGUCUGGGAUGAUU	2372
1662	GUUUUAUACCUUCUACA{invAb}	2645	AUGUAAGAAGGUGAUAAACUU	2646
1663	GUUUUAUACCUUCUACA{invAb}	2647	AUGUAAGAAGGUGAUAAACUU	2648
1664	CAGUUUAUACCUUCUACA{invAb}	2649	AUGUAAGAAGGUGAUAAACUGUU	2650
1665	CAGUUUAUACCUUCUACA{invAb}	2651	AUGUAAGAAGGUGAUAAACUGUU	2652
1666	CAGUUUAUACCUUCUACA{invAb}	2653	AUGUAAGAAGGUGAUAAACUGUU	2654
1667	CAGUUUAUACCUUCUACA{invAb}	2655	AUGUAAGAAGGUGAUAAACUGUU	2656
1668	GUUUUAUACCUUCUACA{invAb}	2657	AUGUAAGAAGGUGAUAAACUU	2658
1669	CAGUUUAUACCUUCUACA{invAb}	2659	AUGUAAGAAGGUGAUAAACUGUU	2660
1670	CAGUUUAUACCUUCUACA{invAb}	2661	AUGUAAGAAGGUGAUAAACUGUU	2662
1671	GUGUUUAUAGAAUGUACGA{invAb}	2663	UUCGUACAUCUAAUAACACUU	2664
1672	GUGUUUAUAGAAUGUACGA{invAb}	2665	UUCGUACAUCUAAUAACACUU	2666
1673	GUUUAUAGAAUGUACGAU{invAb}	2667	UUCGUACAUCUAAUAACUU	2668
1674	GUGUUUAUAGAAUGUACGA{invAb}	2669	UUCGUACAUCUAAUAACACUU	2670
1675	GUGUUUAUAGAAUGUACGA{invAb}	2671	UUCGUACAUCUAAUAACACUU	2672
1676	UAUAGUUGAAUACUUCGAC{invAb}	2673	UGUCGAAGUAAUUAACUUAUU	2674
1677	UAUAGUUGAAUACUUCGAC{invAb}	2675	UGUCGAAGUAAUUAACUUAUU	2676
1678	UAGUUGAAUACUUCGACU{invAb}	2677	UGUCGAAGUAAUUAACUUAUU	2678
1679	UAUAGUUGAAUACUUCGAC{invAb}	2679	UGUCGAAGUAAUUAACUUAUU	2680
1680	UAUAGUUGAAUACUUCGAC{invAb}	2681	UGUCGAAGUAAUUAACUUAUU	2682
1681	UGUCAUCCAGACAUCUUGA{invAb}	2683	AUCAAGAUGUCUGGGAUGACUU	2684
1682	UGUCAUCCAGACAUCUUGA{invAb}	2685	AUCAAGAUGUCUGGGAUGACUU	2686
1683	UCAUCCAGACAUCUUGAUU{invAb}	2687	AUCAAGAUGUCUGGGAUGAUU	2688
1684	UGUCAUCCAGACAUCUUGA{invAb}	2689	AUCAAGAUGUCUGGGAUGACUU	2690
1685	UGUCAUCCAGACAUCUUGA{invAb}	2691	AUCAAGAUGUCUGGGAUGACUU	2692
1686	AACUGAUAGCUGAGUCCUGA{invAb}	2693	UUCAGGACUCAGCUAUCAGUUUU	2694
1687	UAGCUACAUUUUUAUUGGGA{invAb}	2695	AUCCCAUUAAAAUAGCUAUU	2696
1688	ACAUGAUUUGGGAUUACAC{invAb}	2697	AGUGUAAUCCCAAUCAUGUUU	2698
1689	AUUUUUCCAGAUGAGUGUUA{invAb}	2699	AUAACACUCAUCUGGAAAAUUU	2700
1690	AACUGAUAGCUGAGUCCUGA{invAb}	2701	UUCAGGACUCAGCUAUCAGUUUU	2702
1691	UAGCUACAUUUUUAUUGGGA{invAb}	2703	AUCCCAUUAAAAUAGCUAUU	2704
1692	ACAUGAUUUGGGAUUACAC{invAb}	2705	AGUGUAAUCCCAAUCAUGUUU	2706
1693	AUUUUUCCAGAUGAGUGUUA{invAb}	2707	AUAACACUCAUCUGGAAAAUUU	2708
1694	CUGAUAGCUGAGUCCUGAUU{invAb}	2709	UUCAGGACUCAGCUAUCAGUU	2710
1695	GCUACAUUUUUAUUGGGAU{invAb}	2711	AUCCCAUUAAAAUAGCUU	2712
1696	AUGAUUUGGGAUUACACUU{invAb}	2713	AGUGUAAUCCCAAUCAUUU	2714
1697	UUUCCAGAUGAGUGUUAUU{invAb}	2715	AUAACACUCAUCUGGAAAAUU	2716
1698	AACUGAUAGCUGAGUCCUGA{invAb}	2717	UUCAGGACUCAGCUAUCAGUUUU	2718
1699	UAGCUACAUUUUUAUUGGGA{invAb}	2719	AUCCCAUUAAAAUAGCUAUU	2720
1700	ACAUGAUUUGGGAUUACAC{invAb}	2721	AGUGUAAUCCCAAUCAUGUUU	2722

【0183】

G P A M s i R N A 配列の効力及びインビボ安定性を向上させるために、化学修飾を G P A M s i R N A 分子中に組み込んだ。具体的には、リボース糖の 2' - O - メチル及び 2' - フルオロ修飾を、G P A M s i R N A 内の特定の位置に組み込んだ。また、アンチセンス配列及び／又はセンス配列の末端にホスホロチオエートヌクレオチド間結合を組み込んだ。

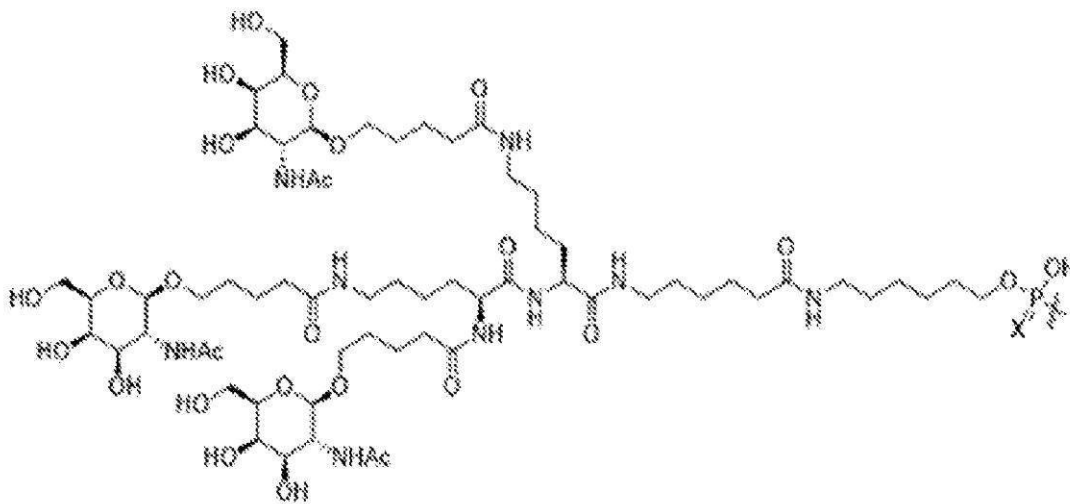
【0184】

生成したアンチセンス及びセンス s i R N A 配列を表 2 に示す。表 2 及び本出願の他の部分のヌクレオチド配列は、以下の表記法に従って列挙されている。A、U、G、及び C

=対応するリボヌクレオチド；d T=デオキシチミジン；d A=デオキシアデノシン；d C=デオキシシチジン；d G=デオキシグアノシン；i n v D T=反転デオキシチミジン；i n v D A=反転デオキシアデノシン；i n v D C=反転デオキシシチジン；i n v D G=反転デオキシグアノシン；a、u、g、及びc=対応する2'-O-メチルリボヌクレオチド；A f、U f、G f、及びC f=対応する2'-デオキシ-2'-フルオロ（「2'-フルオロ」）リボヌクレオチド；A b=脱塩基；i n v A b=反転脱塩基；M e O-I=2'-メトキシイノシン；G N A=グリコール核酸；s G N A=3'-ホスホロチオエートを有するグリコール核酸；L N A=ロックド核酸。配列中の「s」の挿入は、2つの隣接するヌクレオチドがホスホロチオジエステル基（例えば、ホスホロチオエートヌクレオチド間結合）によって連結されることを示す。特に示されない限り、他の全てのヌクレオチドは、3'-5'ホスホジエステル基によって連結されている。表2中のs i R N A化合物の各々は、双方の鎖の3'末端に2ヌクレオチドオーバーハング、又は一方若しくは双方の末端に平滑末端を有する19～21塩基対の二重鎖領域を含む。各〔ホスフェート〕は、以下のG a l N A c構造に結合しており（s G a l N A c 3）：

10

20



30

式中、X=O又はSである。

【0185】

40

50

【表 2 - 1】

表2. 修飾を有するGPAMに対するsiRNA配列

二重鎖 番号	センス配列(5'-3')	配列 番号 (センス)	アンチセンス配列(5'-3')	配列 番号 (アンチ センス)
2001	gsgsgacuCfuUfCfUfGaggguacs{invAb}	1051	asGfsuaacCfucagaaAfgAfgucccsusu	1052
2002	csusuucuGfaGfGfUfUfGfaguggas{invAb}	1053	asUfscacAfguaaccUfcAfgaaagsusu	1054
2003	csusgaggUfUfCfUfGfaggagcacs{invAb}	1055	asGfsugcuCfcacaguAfaCfcucagsusu	1056
2004	ususugcuAfaUfCfGfAfcugauuggs{invAb}	1057	usCfscaauCfagucgaUfuAfgcaaasusu	1058
2005	gscsuauuAfcGfUfUfGfauuggaaas{invAb}	1059	asUfsuuccAfaucaguCfGfauuagsusu	1060
2006	csusaauCfGfUfUfGfauuggaaas{invAb}	1061	usAfsuuuCfauucagUfcGfauuagsusu	1062
2007	usasauCfGfUfUfGfauuggaaas{invAb}	1063	usUfsauuuCfcaaucaGfuCfGauuagsusu	1064
2008	asasucgaCfuGfAfuUfUfGfauuggaaas{invAb}	1065	asUfsuauuUfccaucaAfgUfcgauuagsusu	1066
2009	gsgsaaauAfaUfUfCfCfcaaacacs{invAb}	1067	asGfsuguuUfagggaUfuAfuuuccsusu	1068
2010	asasuauUfCfUfCfAfaacaccacs{invAb}	1069	asGfsugguGfuugagGfaAfuuuagsusu	1070
2011	ascsaccaCfCfAfcGfUfCfcaaggauas{invAb}	1071	asUfsauccUfugacuuGfUfGgugususu	1072
2012	ascscaccAfaGfUfCfAfcaggauacas{invAb}	1073	asUfsguauCfcuugacUfuGfGgugususu	1074
2013	asgsucaaGfGfUfAfcfaggcagcas{invAb}	1075	asUfsgcugCfcugauCfcUfugacususu	1076
2014	asasggauAfcAfcGfGfCfagcagcggs{invAb}	1077	asCfscgcuGfcugccuGfuAfuuccususu	1078
2015	gscsagcgGfCfCfCfCfuguuuags{invAb}	1079	asUfsacaaCfagggaGfcCfGcugcsusu	1080
2016	asgscggcUfcCfCfCfUfGfuuuags{invAb}	1081	asCfsauacAfacaggGfaGfccgcsusu	1082
2017	csgsgcucCfCfUfUfGfUfGfauuggas{invAb}	1083	asUfscacuAfcacagGfGfagccgsusu	1084
2018	cscscgcuUfuGfUfAfuUfGfagcauacs{invAb}	1085	asGfsauuUfccaucaAfaCfaggggsusu	1086
2019	usgsgacuUfUfUfGfCfaccgaaas{invAb}	1087	asUfsuucGfGfugcagAfaUfuccasusu	1088
2020	csusgacCfCfGfAfcAfcugauagcs{invAb}	1089	asGfscuauCfaguucGfGfugcagsusu	1090
2021	usgscaccCfGfAfcAfcugauagcs{invAb}	1091	asAfsacuUfcaguuCfGfGfugcagsusu	1092
2022	csascccAfaAfcUfUfGfauugcagas{invAb}	1093	asUfscagCfauucaguUfuCfGgugususu	1094
2023	cscsgaaaCfuGfAfuUfAfcugagucgs{invAb}	1095	asGfsacucAfgcuauCfGfUfuccgsusu	1096
2024	asascugaUfaGfCfUfGfaguccugas{invAb}	1097	usUfscaggAfcucagCfUfaguuagsusu	1098
2025	asusagcuGfaGfUfCfCfGfaguuuags{invAb}	1099	asAfsaacuUfcaggacUfcAfgcuagsusu	1100
2026	csasgcacAfuGfAfuUfUfGfaguuuags{invAb}	1101	usAfsauuUfccaucaAfuGfugcagsusu	1102
2027	ascsaugaUfuUfGfGfGfauuacacs{invAb}	1103	asGfsuguaAfuucccaAfaUfcaugususu	1104
2028	asusuuggGfaAfuUfAfcacuuuags{invAb}	1105	asAfscaaaGfuguaauUfcCfcaauagsusu	1106
2029	gsgsgaauUfaCfAfcUfUfGfugagacs{invAb}	1107	asUfsgucaCfaagugUfaAfuucccsusu	1108
2030	gsasauuAfcCfUfUfUfGfagacags{invAb}	1109	asCfsauguCfcaaaagUfGfauuacsusu	1110
2031	ascsaauUfGfGfAfcfaggaugacs{invAb}	1111	usUfscacuCfauucaCfaAfaugususu	1112
2032	csascuuGfuGfAfcAfcfaggaugaas{invAb}	1113	asUfsucaCfcaugucAfcAfaugususu	1114
2033	asusgaauCfuGfCfAfcfagaccuus{invAb}	1115	asAfsagggUfcagucAfgAfuucaususu	1116
2034	asuscugAfcUfGfAfcCfauugguas{invAb}	1117	asUfsaccaAfgggucaGfuGfagaususu	1118

【 0 1 8 6 】

【表 2 - 2】

2035	gscsacugAfcCfUfUfgguacaas{invAb}	1119	usAfsuuguAfccaggGfuCfagugcsusu	1120
2036	csusgaccCfuUfGfGfUfacaauagas{invAb}	1121	asUfscuauUfguaccaAfgGfgucagsusu	1122
2037	asasuagaUfgUfUfUfCfuuaucgcs{invAb}	1123	asGfscagaUfaagaaaCfaUfcuauususu	1124
2038	asuscagaAfuAfcAfcGfugguugs{invAb}	1125	asGfsaccaAfcacuguAfuUfcugaususu	1126
2039	uscsagaaUfaCfAfcGfUfguugucgs{invAb}	1127	usCfsgaccAfacacugUfaUfucugaususu	1128
2040	csasgaauAfcAfcGfUfGfuugucgas{invAb}	1129	asUfscgacCfaacacuGfuAfuucugsusu	1130
2041	asgsaauaCfaGfUfGfUfuggucaus{invAb}	1131	asAfsucgaCfcaacacUfgUfauuucsusu	1132
2042	gsasaauacAfgUfGfUfUfggucaugs{invAb}	1133	asCfsaucgAfccacaCfuGfuauucsusu	1134
2043	asasuacaGfuGfUfUfGfugcugaus{invAb}	1135	usAfscaucGfccaacAfcUfguauususu	1136
2044	usascaguGfuUfGfGfUfcgauguaas{invAb}	1137	asUfsuacaUfcgaccaAfcAfcuguasusu	1138
2045	asgsuguuGfGfUfCfGfAfuguaagcas{invAb}	1139	asUfsgcuuAfcuacgaCfcAfacacususu	1140
2046	usgsuaagCfaCfAfcAfagugaggas{invAb}	1141	usUfscucAfcuugugUfgCfuuaucasusu	1142
2047	usasagcaCfaCfAfcAfagugagaaus{invAb}	1143	asAfsuuccUfcacuugUfgUfgcuuasusu	1144
2048	gscsacacAfaGfUfGfAfgaaugggs{invAb}	1145	asCfsccauUfcucacUfuGfugugcsusu	1146
2049	gsgsaagAfaAfcGfCfuuaugagus{invAb}	1147	asAfsucaUfuaggcuUfuCfuuuucsusu	1148
2050	asasgaaaGfcCfUfAfcAfugagucggs{invAb}	1149	usCfscgacUfcuuagGfcUfuucuuususu	1150
2051	asgsaaagCfcUfAfcUfGfagucggas{invAb}	1151	usUfscgaCfucauuuGfgCfuuuucsusu	1152
2052	gsasaagCfuAfcUfGfagucggaas{invAb}	1153	usUfsuccgAfcucauuAfgGfcuuucsusu	1154
2053	asasgccuAfaUfGfAfcGfucgaaas{invAb}	1155	asUfsuuucCfagucaUfuAfggcuususu	1156
2054	cscsuauuGfaGfUfCfGfgaaaggcs{invAb}	1157	asGfscuuUfuccgacUfcAfuuaagsusu	1158
2055	csusaauGfGfUfCfGfGfaaaggccs{invAb}	1159	usGfsgccuUfuuccgaCfuCfauuagsusu	1160
2056	asasugagUfcGfGfAfaaaggccas{invAb}	1161	asAfsuggcCfuuuuccGfaCfuauususu	1162
2057	gsusuggaAfgAfcUfGfUfuguuuacs{invAb}	1163	asGfsaguaAfcacauCfuUfccaaacsusu	1164
2058	asasauuuUfuCfAfcAfccaguuas{invAb}	1165	asAfsuacuGfgggugAfaAfaauususu	1166
2059	asasuuuUfcAfcAfcCfccaguuacs{invAb}	1167	asGfsauacUfgggguGfaAfaauususu	1168
2060	usgsuguUfGfGfGfAfauguuuus{invAb}	1169	asAfsauaaCfauuccgCfaAfaaccasusu	1170
2061	gsgsuuugCfGfAfcUfGfuuuuuas{invAb}	1171	asUfsaaaUfacaauccCfGfcaaaccsusu	1172
2062	usgscggaAfuGfUfUfAfuuuuauacs{invAb}	1173	usGfsauauAfaauaacAfuUfccgcasusu	1174
2063	gscsggaaUfgUfUfAfuuuuauacs{invAb}	1175	usUfsgauaUfaaaauaCfaUfccgcgsusu	1176
2064	asusuauAfuCfAfcUfGfaaacucas{invAb}	1177	asUfsgaguUfcauuuGfuAfuuaasusu	1178
2065	ususauuAfaUfUfGfAfaacucacas{invAb}	1179	asUfsgugaGfuuuuauUfgAfuuaasusu	1180
2066	uscsaauGfAfcCfUfCfacaagagas{invAb}	1181	asUfscuugUfgugaguUfuCfauuagsusu	1182
2067	usgsaaacUfcAfcAfcCfaagacacs{invAb}	1183	asGfsguguCfuuguguGfaGfuuuucasusu	1184
2068	gsasaacuCfaCfAfcAfagacaccgs{invAb}	1185	asCfsggugUfcuugugUfgAfguuucsusu	1186
2069	csgsggaUfgGfCfUfUfgcaagacgs{invAb}	1187	asCfsgucuUfgcaagCfaUfccgcgsusu	1188
2070	gscsggauGfgCfUfUfGfcaagacgs{invAb}	1189	asGfscgucUfgcaagCfcAfuuccgsusu	1190
2071	gscsuugAfaGfAfcGfcuuuucus{invAb}	1191	usAfsagaaAfggcgucUfuGfcaagcsusu	1192
2072	uscsuuuUfaUfUfCfAfaagcgags{invAb}	1193	usCfsucgCfcuugaaUfaAfaaagcsusu	1194
2073	csusuuuAfuUfCfAfcAfcagcgagas{invAb}	1195	asUfscucGfcuugaAfuAfaaaagsusu	1196
2074	ususuuuUfuCfAfcAfcagcgagaus{invAb}	1197	asAfsucucGfcuugAfaUfaaaasusu	1198
2075	ususuuuUfcAfcAfcAfgcgagaus{invAb}	1199	asCfsaucuCfucuuuGfaAfaaaasusu	1200
2076	ususuuuUfaAfcAfcAfcagagaus{invAb}	1201	asAfscaucUfcgucuUfgAfaaaasusu	1202

【 0 1 8 7 】

10

20

30

40

50

【表 2 - 3】

2077	ususauucAfaGfAfGfCfGagauugs{invAb}	1203	asCfsacauCfucgcucUfuGfaauasusu	1204
2078	asasgagcGfaGfAfUfGfugcauags{invAb}	1205	asCfsuuuGfcacacUfcGfcucuuusu	1206
2079	asgsagcgAfgAfUfGfUfgcauaggs{invAb}	1207	asCfscuuUfgcacauCfuCfGcucusu	1208
2080	gsasgcgaGfaUfGfUfGfcauaggs{invAb}	1209	asCfscuuAfugcacaUfcUfcGcucusu	1210
2081	asgsauguGfcAfUfAfAfgggcaugus{invAb}	1211	asAfscaugCfccuuauGfcAfcacucusu	1212
2082	asusgugcAfuAfAfGfGfGcauguuus{invAb}	1213	asAfsaacaUfgccuuAfuGfcacacusu	1214
2083	gsusgcauAfaGfGfGfCfauguuugs{invAb}	1215	asGfscaaaCfaugcccUfuAfcacacusu	1216
2084	gsagsaugUfuUfGfCfCfcauagus{invAb}	1217	asAfscauuGfguggcaAfaCfaugccusu	1218
2085	gsascauguUfuGfCfCfAfcuagugs{invAb}	1219	usCfsacauUfgguggcAfaAfcuagcsusu	1220
2086	asusguuGfcCfAfCfCfaauguacs{invAb}	1221	asGfsucacAfuuggugGfcAfaacacusu	1222
2087	usgsaugaAfcAfGfCfAfguagauas{invAb}	1223	asUfsacucUfacugcuGfuUfcagcasusu	1224
2088	csusgaacAfgCfAfGfUfagaguacac{invAb}	1225	usUfsguacUfcuacugCfuGfuucagcsusu	1226
2089	usasgaguAfcAfAfGfAfggcauugs{invAb}	1227	asCfsaaauGfccucuuGfuAfcuacacusu	1228
2090	gsusacaaGfaGfGfCfAfaugcagac{invAb}	1229	usUfscugcAfaugcccUfcUfugacacusu	1230
2091	asasgaggCfaAfUfUfGfcagaagugs{invAb}	1231	asCfsacuuCfugcauuUfgCfcucacusu	1232
2092	usgsaugaAfuUfAfAfAfcuagugs{invAb}	1233	asCfsaucaGfguuuuAfuUfcagcasusu	1234
2093	usgsaaauAfaAfcCfCfugaugguus{invAb}	1235	asAfsaccaUfcaggguUfuAfaucacusu	1236
2094	gsasauuaAfaCfCfCfUfgauguucs{invAb}	1237	asGfsaaccAfcaggguUfuUfaauucacusu	1238
2095	usgscccaGfcAfGfCfAfaucuaaags{invAb}	1239	asCfsuuuuGfauugcuGfcUfggagcasusu	1240
2096	gsascaGaAfuCfAfAfAfcagccuuas{invAb}	1241	usUfsaacGfcuuuugAfuUfcugcgsusu	1242
2097	asgscauAfaAfAfAfcgcuuaacs{invAb}	1243	usGfsuuuaCfggcuuuUfgAfuugcgsusu	1244
2098	csasaucaAfaAfGfCfCfuuuaacaas{invAb}	1245	usUfsuguuAfcaggcuUfuUfgauugsusu	1246
2099	asasucaaAfaGfCfCfCfuuuaacaas{invAb}	1247	asUfsuuguUfaacggcUfuUfugauugsusu	1248
2100	asuscaaaAfgCfCfGfUfuuaacaags{invAb}	1249	asCfsuuugUfaaacggCfuUfuugacacusu	1250
2101	uscsaaaaGfcCfGfUfuuaacaags{invAb}	1251	asAfsuuuuGfuuaacGfcUfuuuagacusu	1252
2102	asasaagcCfGfUfAfAfAfcuagugac{invAb}	1253	usUfscacuUfuguuuaCfGfcuuuacusu	1254
2103	asasagccGfuUfAfAfAfcuagugac{invAb}	1255	usUfsucacUfuuguuaAfcGfcuuuacusu	1256
2104	gsccsguuAfaCfAfAfAfcuagugac{invAb}	1257	asUfsuuuuCfaccuuUfuAfcaggcsusu	1258
2105	asasagaaAfgCfUfAfAfaaggauucs{invAb}	1259	asGfsaaucCfuuuuagCfuUfcuuuacusu	1260
2106	asasaaggAfuUfCfUfUfcaagaaus{invAb}	1261	asAfsuuucUfugaagaAfuCfcuuuacusu	1262
2107	csascuguCfuCfAfCfCfGgcauagac{invAb}	1263	asUfscauuGfccggugAfgAfcagacacusu	1264
2108	usgsucucAfcCfGfGfCfaugacac{invAb}	1265	asUfsgaucAfuugccGfuGfagacacusu	1266
2109	csuscaccGfCfAfAfUfgaucagac{invAb}	1267	asGfsucugAfucauugCfcGfugagacacusu	1268
2110	gsccsaugAfuCfAfGfAfcuagacuggs{invAb}	1269	asCfscaguCfagucugAfuCfaugacacusu	1270
2111	asuscagaCfuGfAfCfUfggugggus{invAb}	1271	asAfscccaCfccagucAfgUfcuagacacusu	1272
2112	gsugsugcGfcUfAfAfAfcuagacac{invAb}	1273	usUfsgaacAfguuuuAfcAfcacacacusu	1274
2113	gsusgugcCfuAfAfAfAfcuagacac{invAb}	1275	asUfsugaaCfaguuuuAfgCfagacacacusu	1276
2114	uscsaaaaUfcAfCfAfAfcuagacac{invAb}	1277	asGfsuugaCfcuuuguGfaAfuugacacacusu	1278
2115	asasuuaCfaAfAfGfGfcauagacac{invAb}	1279	usCfsaaguUfgaccuuUfgUfgaaucacacusu	1280
2116	ascsaaagGfuCfAfAfCfuagacacac{invAb}	1281	asCfsaucaCfaaguugAfcCfuugacacacusu	1282
2117	asgsucaAfcUfUfGfAfguaguuas{invAb}	1283	usUfsaaccAfcucaaGfuUfgaccacacusu	1284
2118	gsgsuuuaAfgCfUfGfCfaucagacac{invAb}	1285	asUfscucaGfuugcagCfuUfuuaacacacusu	1286

【 0 1 8 8 】

10

20

30

40

50

10

20

30

40

【表 2 - 5】

2161	ascsuucgAfcAfGfCfAfgcaauucus(invAb)	1371	asAfsgaauUfgcugcuGfuCfgaagususu	1372
2162	csgsuuucuAfgGfAfGfUfggaaaaacs(invAb)	1373	asGfsuuuuUfccacucCfuAfgaacgsusu	1374
2163	gsusucuaGfgAfGfUfGfgaaaaacs(invAb)	1375	asGfsguuuUfuccacuCfcUfagaacsusu	1376
2164	ususuguCfaGfUfUfGfugguagaus(invAb)	1377	usAfsucuaCfcacaacUfgAfcaaaasusu	1378
2165	ususgucaGfuUfGfUfGfguagauacs(invAb)	1379	asGfsuauCfaccacaAfcUfgacaasusu	1380
2166	uscsaguUfGfGfUfAfgauacucus(invAb)	1381	asAfsagauAfcuaccAfcAfacugasusu	1382
2167	csusaccaAfuGfUfCfAfuuccagacs(invAb)	1383	usGfsucugGfgaugacAfuUfgguagsusu	1384
2168	asusgucaUfcCfCfAfgfacaucuuus(invAb)	1385	usCfsaagaUfgucuggGfaUfgacausus	1386
2169	usgsucaUfcCfAfgfAfaucuuugas(invAb)	1387	asUfscagAfuugucGfgAfuagacasusu	1388
2170	gsuscaucCfcAfgfAfcfaucuuugaus(invAb)	1389	usAfsucaGfaugucuGfgGfaugacsusu	1390
2171	cscscagaCfaUfCfUfUfgauaaucis(invAb)	1391	asGfsuauUfucagaUfgUfcugggsusu	1392
2172	uscsuugaUfaAfuAfcCfcuguuggas(invAb)	1393	usUfscacCfagguauUfaUfcaagasusu	1394
2173	csusugauAfaUfAfcCfcuguuggas(invAb)	1395	asUfsuccaAfcagguaUfuUfcaagasusu	1396
2174	gsusuggaAfuCfUfCfCfuugaucgs(invAb)	1397	asCfsgaucAfuaggagAfuUfcaacsusu	1398
2175	csasuuaUfcGfAfgGfucacucacs(invAb)	1399	usUfsguagUfgaccuuCfGfaaauugsusu	1400
2176	ususaucgAfaGfGfUfCfacuacaas(invAb)	1401	asAfsuuguAfgugaccUfuCfgaauasusu	1402
2177	gsusguagCfaAfgfAfgfuguuuus(invAb)	1403	usAfsauaaCfaccucuUfgCfuacacsusu	1404
2178	gsusguuaUfuAfgfAfgfuguuacgas(invAb)	1405	usUfscguAfcuuuUfaUfaacacsusu	1406
2179	usgsuuauUfaGfAfgfUfguuacgaas(invAb)	1407	usUfsucguAfaauuUfaUfaaacsusu	1408
2180	gsusuuuAfgfAfgfUfguuacgaas(invAb)	1409	usUfsuucgUfaauuUfuUfaaacsusu	1410
2181	ususauuaGfaAfuGfUfuacgaaas(invAb)	1411	usUfsuuuGfuaauUfcUfaaauasusu	1412
2182	ususagaaUfgUfUfAfcfgaaaaacs(invAb)	1413	asGfsuuuuUfucguaaCfaUfucuaasusu	1414
2183	usasgaauGfuUfAfcfgfaaaaaacus(invAb)	1415	usAfsguuuUfuucguaAfcAfuucuasusu	1416
2184	asgsaaugUfuAfcfgfaaaaaacus(invAb)	1417	asUfsaguuUfuuuuUfaCfaauucusus	1418
2185	asasuguUfcGfAfgfAfaaauuugs(invAb)	1419	asCfsauagUfuuuuUfcGfaaauucusus	1420
2186	asusguuaCfGfAfgfAfaaauuugs(invAb)	1421	asCfscauaGfuuuuuUfcGfaaauucusus	1422
2187	usgsuuacGfaAfgfAfgfauuuggs(invAb)	1423	asAfsccauAfguuuuUfcGfuaaacsusu	1424
2188	ususacgaAfaAfgfAfgfauuuggs(invAb)	1425	asCfsaaccAfuaguuUfuUfcguuasusu	1426
2189	usascgaaAfaAfgfAfgfauuuggs(invAb)	1427	asAfscaacCfauguuUfuUfucguasusu	1428
2190	asasaaacUfaUfGfGfUfguguccgs(invAb)	1429	usCfsggacAfaaccaUfaGfuuuuusus	1430
2191	asascuauGfgUfUfGfUfguccgagus(invAb)	1431	asAfsucgGfacacaaCfcAfuaguusus	1432
2192	asasggaaUfaUfUfUfgaaagccas(invAb)	1433	usUfsggcuUfucuaaaUfaUfuccuusus	1434
2193	asgsagaaUfuUfUfAfgfaaaagccas(invAb)	1435	usUfsuggcUfuucuaaAfuAfuuccusus	1436
2194	gsgsaauUfuUfAfgfAfaagccaaas(invAb)	1437	asUfsuuggCfuuuuUfaUfaauccusus	1438
2195	usasgaaaGfcCfAfgfAfgucagaaas(invAb)	1439	asUfsuucGfauuugGfcUfuucuasusu	1440
2196	asgsaaagCfcAfgfAfgfucagaaas(invAb)	1441	asGfsuuuUfgacuuUfgCfuuuucusus	1442
2197	asgsccaaAfgUfcAfgfAfaaaccggs(invAb)	1443	asAfsccggUfuucugaCfuUfuggcususu	1444
2198	asgscaagCfGfUfUfUfuaccagcus(invAb)	1445	usAfsugcuGfuaacaCfGfuugcususu	1446
2199	gscsaagCfUfUfUfUfaccagcuas(invAb)	1447	asUfsagcuGfguaacaAfcGfcuugcsusu	1448
2200	asasgcguUfgUfUfAfcfcagcuauas(invAb)	1449	asUfsauagCfugguaaCfaAfcgcuusus	1450
2201	asgscguUfUfAfcCfcagcuauacs(invAb)	1451	asGfsuuaGfcugguaAfcAfcagcususu	1452
2202	gsusccauUfaAfgfAfgucagaaas(invAb)	1453	usUfsucgGfaucaUfaAfuaggacsusu	1454

【 0 1 9 0 】

10

20

30

40

50

10

20

30

【表 2 - 7】

2245	gscscuuuAfuGfCfAfGfuucugaacs(invAb)	1539	usGfsuucaGfaacugcAfuAfaagcsusu	1540
2246	asgscaccCfcAfCfCfUfaaccugaus(invAb)	1541	asAfsucagGfuuagguGfgGfgugcsusu	1542
2247	csasccccAfcCfUfAfAfccugaucas(invAb)	1543	asUfsgaucAfgguuagGfuGfggugsusu	1544
2248	cscscaccUfaAfCfCfUfgaucagccs(invAb)	1545	usGfsgcugAfuacagguUfaGfgugggsusu	1546
2249	usgsugcuAfcCfUfUfCfucuccaas(invAb)	1547	asAfsuuggAfgagaagGfuAfgcacasusu	1548
2250	ascscaucUfcAfCfUfGfccuugccas(invAb)	1549	asUfsggcaAfggcaguGfaGfauggususu	1550
2251	csusgccuUfgCfCfAfGfacaauuuas(invAb)	1551	asUfsaaaaUfgucuggCfaAfggcagsusu	1552
2252	csasugaaAfcAfGfUfAfGgaaguus(invAb)	1553	asAfsacuuUfccuacuGfuUfucaugusu	1554
2253	gsasaacaGfuAfgGfAfaaguuuauus(invAb)	1555	asAfsuaaaCfuuuuccuAfcUfguuucsusu	1556
2254	gsusaggaAfaGfUfUfUfauccaguas(invAb)	1557	asUfsacugGfaaaacUfuUfccuacsusu	1558
2255	gsusuauuAfcAfGfUfAfuuggauucs(invAb)	1559	asGfsaaugCfcuacuGfgAfuuaacsusu	1560
2256	ususcuuaCfaGfUfGfGfcagagcacs(invAb)	1561	asGfsugcuCfugccacUfgUfaagaasusu	1562
2257	usascaguGfgCfAfGfAfgcacgaugs(invAb)	1563	usCfsaucgUfgcucugCfcAfcuguasusu	1564
2258	gsasugacCfaGfGfAfAfgauaucags(invAb)	1565	asCfsugauAfuucuccUfgGfucacsusu	1566
2259	gsasagauAfuCfAfGfUfccuagucus(invAb)	1567	asAfsagcuAfggacugAfuAfuucacsusu	1568
2260	usasgucuUfgCfUfGfAfgcagcagus(invAb)	1569	asAfsucugUfgcucagCfaAfgacuasusu	1570
2261	ususugucUfuGfGfAfGfaagugaugs(invAb)	1571	usCfsaucaCfuucuccAfaGfacaasusu	1572
2262	asgsgaacAfgCfGfAfGfauugcuacs(invAb)	1573	asGfsuagcAfaucucgCfuGfuuccususu	1574
2263	csasgcgaGfaUfUfGfCfuaccugaas(invAb)	1575	asUfsucagGfuagcaaUfcUfgcugcsusu	1576
2264	gscsuaccUfgAfAfGfGfugagccaas(invAb)	1577	asUfsuggcUfcacuuCfaGfguagcsusu	1578
2265	csusaccuGfaAfGfGfUfgagccaas(invAb)	1579	asAfsuuggCfucacuuUfcAfgguagsusu	1580
2266	cscsugaaGfgUfGfAfGfcaauccas(invAb)	1581	usUfsggauUfggcucaCfcUfucaggsusu	1582
2267	gsasgacuCfcUfUfGfGfccuuugcs(invAb)	1583	asGfscaaaGfgcccaaGfgAfgucacsusu	1584
2268	asgsaaauGfuUfGfCfAfgauauugcs(invAb)	1585	asGfscauuUfacugcaAfcAfuuuacsusu	1586
2269	gsasaaugUfuGfCfAfGfauauugcs(invAb)	1587	asAfsgcuuAfuacugcAfaCfauuacsusu	1588
2270	csasguauAfuGfCfUfGfagagugccs(invAb)	1589	usGfsgcacUfcucagcAfuAfuacugsusu	1590
2271	usasuuuguCfuUfGfUfGfagaaugcs(invAb)	1591	asGfscauuCfuucacaAfgAfaaasusu	1592
2272	usgsaaaaUfgUfUfUfAfgagauuuus(invAb)	1593	asAfsauuuCfcuuuuuAfaUfuuuacsusu	1594
2273	gsasccaaAfcAfAfAfagagugugs(invAb)	1595	asAfsacuuCfucuuuuGfuUfugugcsusu	1596
2274	ascsaauuAfaGfAfGfUfgucuguuus(invAb)	1597	asAfsaacaGfacacucUfcUfuuuugsusu	1598
2275	csasaaagAfgAfGfUfGfucuguuus(invAb)	1599	usAfsaaacAfgacacuCfuCfuuuugsusu	1600
2276	gsusuuuuGfaAfCfUfGfagcagcacs(invAb)	1601	asGfsugcuGfcucaguUfcUfaaaacsusu	1602
2277	asgsaaacuGfaGfCfAfGfcacuuuucs(invAb)	1603	asGfsaaaaGfugcugcUfcAfguucacsusu	1604
2278	asgscacuUfuUfCfUfAfccucaaugs(invAb)	1605	asCfsauugAfgguagaAfaAfgugcsusu	1606
2279	ususucuaCfcUfCfAfAfugcaaccgs(invAb)	1607	usCfsgguuGfcauugaGfgUfagaaasusu	1608
2280	gsusuuugUfgGfUfGfCfugagguas(invAb)	1609	usUfsaccuAfcagcacCfaCfaaaacsusu	1610
2281	ususguggUfgCfUfUfAfgguaacgs(invAb)	1611	asCfsguuuAfcuacagCfaCfcacaasusu	1612
2282	gsusggugCfuGfUfAfGfguaacgugs(invAb)	1613	asCfsacguUfaccuacAfgCfaccacsusu	1614
2283	gsugugcuGfuAfgGfUfAfcgugugs(invAb)	1615	asCfsacacGfuuaacuAfcAfgcaccsusu	1616
2284	usgscuguAfgGfUfAfAfcgugugcs(invAb)	1617	usGfscacAfcguuacCfuAfcagcasusu	1618
2285	gsgscaaaUfgAfAfGfGfucagagas(invAb)	1619	asUfscucaUfgacuuCfaUfuugccsusu	1620
2286	gsasucugUfgAfUfCfUfccuagccus(invAb)	1621	asAfsugcugGfgaagauCfaCfagaacsusu	1622

【 0 1 9 2 】

10

20

30

40

50

【表 2 - 8】

2287	gscsagauAfaCfAfCfUfUfgggggg{invAb}	1623	asUfsccccCfcaagugUfuAfucugcsusu	1624
2288	asusaacaCfuUfGfGfGfgggaccucs{invAb}	1625	usGfsagguCfcccccaAfgUfguuuususu	1626
2289	gsascucAfgCfCfUfCfuauucgcas{invAb}	1627	usUfsgcgAfuagaggCfuGfaggucsusu	1628
2290	ascscucaGfcCfUfCfUfauucgcaas{invAb}	1629	asUfsugcgAfuagaggGfcUfgaggususu	1630
2291	asusaauCfGfUfAfGfAfcuacaagas{invAb}	1631	asUfscuugUfagucuaCfGfauuuususu	1632
2292	cscsguagAfcUfAfCfAfagauaas{invAb}	1633	asUfsuuaCfucuguaGfuCfuacggsusu	1634
2293	usasgacuAfcAfAfGfAfugaaauc{invAb}	1635	asAfsgauUfcaucuuGfuAfugucuasusu	1636
2294	ususguugGfuAfUfAfUfauucggus{invAb}	1637	asAfsccagAfuauauAfcCfaacaasusu	1638
2295	usgsuugGfuAfUfUfUfauucggus{invAb}	1639	usAfsaccaGfauauaUfaCfcaacasusu	1640
2296	gsusugguAfuAfUfUfUfucugguuas{invAb}	1641	asUfsaaccAfgauauAfuAfcacaasusu	1642
2297	asasaauUfuGfAfGfUfcauccauus{invAb}	1643	asAfsauggAfugacucAfaUfauuuususu	1644
2298	csusgucaAfuAfGfUfAfgcuacauus{invAb}	1645	asAfsaugUfagcuacUfaUfagacagsusu	1646
2299	usgsucaaUfaGfUfAfGfucacauus{invAb}	1647	asAfsaauUfagcuacUfaUfagacagsusu	1648
2300	csasaauUfaGfCfUfAfcuuuuuas{invAb}	1649	usUfsaaaAfugagcUfaCfuauugsusu	1650
2301	gsusagcuAfcAfUfUfUfuuauuggs{invAb}	1651	usCfscuuUfaaaaaUfuAfgcuacsusu	1652
2302	usasgcuAfaUfUfUfUfuuauuggs{invAb}	1653	asUfscuuUfaaaaaUfgUfagcuasusu	1654
2303	csasaauUfaGfUfUfUfagguccggs{invAb}	1655	usCfscgaCfcuaaacUfaAfuauugsusu	1656
2304	asusaguUfuAfGfGfUfucgggaacs{invAb}	1657	asAfsguucCfcgaccUfaAfcuaasusu	1658
2305	ususagguCfGfGfAfAfcugagauas{invAb}	1659	asUfsauuUfaguccCfGfaccuacsusu	1660
2306	asgsgucGfGfAfCfUfagagauus{invAb}	1661	asAfsauuUfcaguuCfcCfagaccususu	1662
2307	uscsaggAfuUfGfAfGfauuuuugs{invAb}	1663	usUfsauuUfauucaGfuUfcccagsusu	1664
2308	gsgsaauGfaGfAfUfUfuuuuaacs{invAb}	1665	usGfsauuUfaauuUfcAfguucssusu	1666
2309	gsasacugAfgAfUfUfUfuuuuaacs{invAb}	1667	usUfsgauUfcauuUfcUfaguuususu	1668
2310	asascugaGfaUfAfUfUfuuuuaacs{invAb}	1669	usUfsugauUfcauuUfcUfaguuususu	1670
2311	csusgagaUfaUfUfUfUfuuuuaacs{invAb}	1671	usAfsuuuUfuuaaaUfaUfcuagcsusu	1672
2312	usasuguAfaUfCfAfAfauguuaas{invAb}	1673	asUfsuaaUfauuuUfaUfcauacsusu	1674
2313	usgsuauCfaAfUfUfAfguuuacacs{invAb}	1675	asAfsuguUfauuuUfgUfuuaacsusu	1676
2314	gsusaauCfaAfUfUfAfguuuacacs{invAb}	1677	usGfsauuUfaauuUfuGfauuacsusu	1678
2315	usasaucaAfaUfAfGfUfuaacauacs{invAb}	1679	asUfsgauUfuaauUfuUfgauuacsusu	1680
2316	asasuaguUfaAfcAfUfaggaagus{invAb}	1681	asAfsuucCfugauUfaAfcuauususu	1682
2317	asusaguAfaCfAfUfCfaggaaguu{invAb}	1683	usAfsauuUfcugauUfuAfcuauususu	1684
2318	usasguuAfcAfUfCfAfggaaguu{invAb}	1685	usUfsauuUfccuagUfuUfaauacsusu	1686
2319	asgsuuaCfaUfCfAfGfagaaguu{invAb}	1687	asUfsuuaUfuccuagUfgUfuauacsusu	1688
2320	asasguuAfuUfUfGfGfcuggcaas{invAb}	1689	usUfsuugCfagccaaAfuUfaauususu	1690
2321	usasauuUfGfCfUfGfGfcaaaauacs{invAb}	1691	asGfsauuUfugccagCfcAfaauuacsusu	1692
2322	uscsuaggGfaAfAfCfUfugccag{invAb}	1693	usUfscuugCfcaaguuUfcCfcuagacsusu	1694
2323	usgsccaGfaAfAfCfUfugguuugs{invAb}	1695	usCfsaacaCfcaguuUfcUfgccasusu	1696
2324	ususagaAfcCfCfUfUfccuuuuus{invAb}	1697	usAfsaaacAfggaaggGfuUfcauacsusu	1698
2325	asasuccCfcAfAfCfCfaaaugcas{invAb}	1699	asUfsgcuUfuugguGfGfaggauususu	1700
2326	asgsuuuUfcUfAfCfUfugauuags{invAb}	1701	asCfsuauUfaaguuGfGfagaacsusu	1702
2327	ususuccUfaAfcUfUfgauuagcs{invAb}	1703	asAfsuuaAfucaagUfaGfgaaaasusu	1704
2328	uscscuaCfuUfGfAfUfagcuugas{invAb}	1705	asUfsaagCfuauuAfgUfuaggasusu	1706

【 0 1 9 3 】

10

20

30

40

50

【表 2 - 9】

2329	ascsuugaUfuAfGfCfUfugagcugas{invAb}	1707	asUfscagcUfcaagcuAfaUfcaagususu	1708
2330	csusugauUfaGfCfUfUfagcugacs{invAb}	1709	usGfsucagCfucaagcUfaAfucaagsusu	1710
2331	csusuucuGfuAfCfUfGfcaacagacs{invAb}	1711	asUfscuguGfugcaguAfcAfgaaagsusu	1712
2332	uscsuguaCfuGfCfAfCfagcagauugs{invAb}	1713	asCfsaaucUfugugcAfgUfacagagsusu	1714
2333	csusguacUfgCfAfCfAfcagauugs{invAb}	1715	asAfscaauCfugugcCfaGfuacagsusu	1716
2334	gscsacccCfaGfUfCfCfaggugacus{invAb}	1717	asAfsgucaCfcuggcUfgGfggugcsusu	1718
2335	uscsagauUfgUfGfCfCfugcacaas{invAb}	1719	asUfsugugCfagggcaCfaAfcucgagsusu	1720
2336	asgsuuguGfCfGfUfGfcacaaccus{invAb}	1721	asAfsgguuGfugcagGfcAfcacacususu	1722
2337	gsusgcacAfaCfCfUfGfuccagauas{invAb}	1723	usAfsuacuGfgacaggUfuGfugcacsusu	1724
2338	usgsacacaAfcCfUfGfUfuccagauas{invAb}	1725	asUfsauacUfggacagGfuUfgugcasusu	1726
2339	cscsugucCfaGfUfAfUfaucaugus{invAb}	1727	asAfscaugCfauauacUfgGfacaggsusu	1728
2340	usgsccccUfaCfUfGfAfcugguuauas{invAb}	1729	asAfsuuacCfagucagUfaGfggccasusu	1730
2341	gscsuuugAfgGfAfAfaaaccagags{invAb}	1731	asUfscaugGfuuuuucCfuCfaaagcsusu	1732
2342	asasaccaUfgAfcCfUfUfuuuacaaas{invAb}	1733	asUfsuuguUfaaaaguCfaUfgguuususu	1734
2343	ascsaaaUfUfUfUfUfggguuuauas{invAb}	1735	asUfsauaaCfccauaaAfaAfuuuugususu	1736
2344	ususuuuaUfgGfGfUfUfauaugccus{invAb}	1737	usAfsggcaUfaaaaccCfaUfaaaasusu	1738
2345	usasugggUfuAfUfUfUfgccuaaacs{invAb}	1739	asGfsuuuaGfgcauauAfaCfccuaasusu	1740
2346	asasugguCfuGfUfUfCfauauuugs{invAb}	1741	asCfscaauUfauaacAfgAfcuuususu	1742
2347	gsgsucugUfuCfAfUfUfauugguags{invAb}	1743	asCfsuaccAfauuuagAfaCfagaccsusu	1744
2348	csusguucAfuAfUfUfUfgguaggugs{invAb}	1745	asCfsaccuAfccaauuAfuGfaacagsusu	1746
2349	usasauugGfuAfGfGfUfgccuuuugs{invAb}	1747	asCfsaaaaGfgcaccuAfcCfaauuasusu	1748
2350	asgsuuuaCfuGfUfUfGfcuaucucs{invAb}	1749	asGfsagauAfgcaacAfgUfaaacususu	1750
2351	ususuuccAfgAfUfGfAfguguuacacs{invAb}	1751	asUfsguaaCfacuauCfuGfgaaaasusu	1752
2352	asgsuacuGfaGfAfUfUfuaaguugs{invAb}	1753	asCfsaaacUfuaauucUfcAfguacususu	1754
2353	gsusacugAfgAfUfUfUfaaguuuugs{invAb}	1755	usAfscaaaCfuuaauuUfcCfaguacsusu	1756
2354	csusgauuGfaUfUfUfUfucacauugs{invAb}	1757	asCfsaaugUfgaaaUfaCfaucagsusu	1758
2355	usgsauugAfuAfUfUfUfucacauugs{invAb}	1759	usAfscaauGfugaauuAfuCfaaucasusu	1760
2356	gsuscaguUfgUfAfGfUfagcucugas{invAb}	1761	asUfscagaGfcuacuaCfaAfcugacsusu	1762
2357	csasguugUfaGfUfUfGfcucugaug{invAb}	1763	asCfsaucaGfagcuacUfaCfaacugsusu	1764
2358	gscsaaucCfaUfUfUfUfagcucuas{invAb}	1765	asUfsagucAfguaaaaUfgGfaaugsusu	1766
2359	ususggcuAfcAfUfUfUfUfgaggauas{invAb}	1767	asUfsauccUfccaaauGfuAfgccaasusu	1768
2360	asgsgauaCfcCfAfGfGfagagcuugs{invAb}	1769	asCfsaagaCfuccugGfgUfauccususu	1770
2361	gsgsauacCfcAfGfGfGfagucuuugs{invAb}	1771	asCfscaagAfcucccuGfgGfuauccususu	1772
2362	asgscaaaCfaUfUfUfUfUfagucuc{invAb}	1773	asAfsagcuAfgugaaaUfgUfuugcususu	1774
2363	ascsauuuCfaCfUfUfUfUfUfagucuu{invAb}	1775	asAfsaaaagAfgacuagUfgAfaaugsusu	1776
2364	ususuucaUfcCfUfUfUfUfUfaguuu{invAb}	1777	usUfsacaaUfuuuagGfaUfgaaaasusu	1778
2365	usasauuuAfaGfGfUfUfUfUfUfaguc{invAb}	1779	asCfsuugaGfuauuucUfuAfauuuasusu	1780
2366	asasaauaAfgGfAfUfUfUfUfUfaguc{invAb}	1781	asGfscuugAfguaauCfuUfaauuususu	1782
2367	ususaaggAfuUfAfCfUfUfUfUfUfaguc{invAb}	1783	asUfsgagcUfugaguaAfuCfcuuasusu	1784
2368	ascsucaaGfcUfCfAfCfUfUfUfUfUfaguc{invAb}	1785	usGfsaauaAfggugaGfcUfugagususu	1786
2369	uscsaagcUfcAfCfCfUfUfUfUfUfaguc{invAb}	1787	asUfsugaaUfaaugguGfaGfcuugasusu	1788
2370	ususauuuUfcCfCfUfUfUfUfUfUfUfaguc{invAb}	1789	asCfscaacCfaaaaggGfaAfaauasusu	1790

【 0 1 9 4 】

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 0】

2371	csasauguAfuGfAfUfUfugcuagcus{invAb}	1791	asAfsgcuaGfcaaaucAfuAfcuugsusu	1792
2372	usgsuauGfUfUfGfCfugcucucs{invAb}	1793	asGfsagagCfuagcaaAfuCfauacasusu	1794
2373	gscsuuuUfGfUfAfAfUfuaacuggus{invAb}	1795	asAfsccagUfuaauuaCfaAfaaagsusu	1796
2374	ususuguaAfuUfAfAfCfuggugcuus{invAb}	1797	asAfsagcaCfcaguuAfuUfacaasusu	1798
2375	gsusaaUfAfaCfUfGfGfugcuuugus{invAb}	1799	usUfscaaaGfcaccagUfuAfaauacsusu	1800
2376	ususgaaaAfuCfUfUfUfuuuagggs{invAb}	1801	usCfscuuUfaaaaagAfuUfuucaasusu	1802
2377	asasaucUfCfAfAfCfCfaaguuus{invAb}	1803	asAfsuaacUfuugguUfGfGfauuuususu	1804
2378	uscsucaaCfCfAfAfGfGfuaugcucs{invAb}	1805	usGfsagcaUfaacuuUfGfUfugagasusu	1806
2379	csasaccaAfaGfUfUfUfugcucacs{invAb}	1807	asGfsaugaGfcauaUfUfGfguugsusu	1808
2380	asasaguuAfuGfCfUfCfauccagacs{invAb}	1809	usGfsucugGfauagagCfuAfaauususu	1810
2381	asgsuuuGfCfUfCfAfUfCfagacaas{invAb}	1811	asUfsugucUfGgaugaGfCfuaacsusu	1812
2382	gsusaaUfUfCfAfGfCfacaacucacs{invAb}	1813	asUfsgaguUfGgucugAfaAfuuaacsusu	1814
2383	gsasuagCfCfCfUfUfUfugcuuaas{invAb}	1815	usUfsuuagCfaaaacGfGfGfuaacsusu	1816
2384	usasgcacCfGfUfUfUfGfGfuaaags{invAb}	1817	usCfsuuUfGfcaaaaCfGfGfugcuasusu	1818
2385	asgscaccGfUfUfUfGfGfuaaaaags{invAb}	1819	asUfscuuUfagcaaaAfcGfGfugcususu	1820
2386	gscsaccGfUfUfUfGfGfuaaaaagus{invAb}	1821	usAfsucuuUfuagcaaAfaCfGgugcsusu	1822
2387	csasccguUfUfUfGfCfUfaaaagauas{invAb}	1823	asUfsaucUfuuagcaAfaAfcggugsusu	1824
2388	ascscguUfUfUfGfCfUfAfaaagauacs{invAb}	1825	usGfsuauCfuuuagCfaAfaacgugsusu	1826
2389	csasuucUfAfuUfGfUfUfuuccaacs{invAb}	1827	usGfsuugGfaaaacaUfGfGfaugsusu	1828
2390	asusucUfAfuUfGfUfUfuuccaacs{invAb}	1829	asUfsguugGfaaaacaAfuGfagaasusu	1830
2391	usgsuuUfCfCfAfCfAfGfGfuaaaggcs{invAb}	1831	asGfscuuCfagcuUfGfGfaaacsusu	1832
2392	ascsaauGfGfUfUfAfAfAfaaaacuacs{invAb}	1833	asUfsaguuUfGuuuaCfCfuaugususu	1834
2393	csasuaagGfUfUfAfAfAfaaaacuags{invAb}	1835	asCfsuaguUfuguuaAfcCfuaugsusu	1836
2394	asusaaggUfUfAfAfAfCfaaaacuaggs{invAb}	1837	asCfscuagUfuuuuAfaCfuuuacsusu	1838
2395	usasagguUfAfaCfCfAfaaacuaggus{invAb}	1839	asAfsccuGfuuuguUfAfaaccuacsusu	1840
2396	gsusuaaaCfaAfAfCfUfagguugcuus{invAb}	1841	asAfsagcaCfcuaguUfGfUfuaacsusu	1842
2397	ususaaacAfaAfCfUfAfGgugcuugs{invAb}	1843	asCfsaagCfaccuaguUfGfuuuacsusu	1844
2398	asasuuaUfUfAfCfAfGfuuuacucacs{invAb}	1845	usAfsagagUfaacugUfAfaaaususu	1846
2399	csusguaaCfaUfGfAfAfaugcaugcs{invAb}	1847	asGfscaugCfauuuUfGfUfuaacsusu	1848
2400	asascaugAfaUfUfGfCfaucccuus{invAb}	1849	asAfsagggCfaucaUfUfCfauugsusu	1850
2401	asasaugaGfaUfUfGfUfCfuaagugs{invAb}	1851	usCfsacuUfaggaUfCfCfauuugsusu	1852
2402	asgsaaugUfCfUfAfAfGfGfuaaagucs{invAb}	1853	asUfsgaaUfCfauuagGfCfauuugsusu	1854
2403	gsgsaauGfUfGfUfAfGfGfuaaagucs{invAb}	1855	usUfsaacaGfuuuacAfcAfuuuugsusu	1856
2404	ususucacAfaAfGfUfCfauaggugus{invAb}	1857	usAfsccuUfauagcuUfGfGfuaaugsusu	1858
2405	asgscacuCfCfUfGfUfAfaaagugs{invAb}	1859	asCfsucaUfuuacuGfGfGfugcususu	1860
2406	usgsuaauAfuGfAfGfUfGfGfugcuugs{invAb}	1861	usCfsacagAfgcacUfAfuuaacsusu	1862
2407	usasugagUfGfCfUfCfUfGfGfagugs{invAb}	1863	asCfsaucUfCfagagCfaCfuaugsusu	1864
2408	gsusuuuUfAfaGfAfAfGfGfGfuaaugs{invAb}	1865	asCfsaacaCfauuucUfAfaaaugsusu	1866
2409	ususuuuUfGfAfAfAfGfGfGfuaaugs{invAb}	1867	asGfscaacAfcuuuUfAfaaaugsusu	1868
2410	usasuguUfGfAfAfGfGfGfGfuaaugs{invAb}	1869	asUfsuaaaGfaacuUfCfUfuaugsusu	1870
2411	asusaguuCfUfUfAfAfGfGfGfGfuaaugs{invAb}	1871	usUfsugucUfCuuuUfAfaaugsusu	1872
2412	ususcuuUfAfaGfGfAfGfGfGfGfuaaugs{invAb}	1873	asCfsguuUfGfGfGfGfGfGfuaaugs{invAb}	1874

【 0 1 9 5 】

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 1】

2413	ususaaggAfgAfCfAfaaacgguuas{invAb}	1875	asUfsuaccGfuuuuguCfuCfcuuasusu	1876
2414	asgsacaaAfaCfGfGfUfaaugaacas{invAb}	1877	asUfsguucAfuuaccgUfuUfugucususu	1878
2415	gsusugaaUfaGfAFUFGfuguaauuucs{invAb}	1879	asGfsaaaAfcacauCfuUfuaacsusu	1880
2416	usasauguAfgGfUFGfAfucggagcus{invAb}	1881	asAfsagcucCfgaucacCfuAfcuuasusu	1882
2417	usgsaucgGfaGfCfUfCfuuuuccuuus{invAb}	1883	asAfsaaggAfaagagcUfcCfgaucasusu	1884
2418	gsasgcucUfuUfCfCfUfuugauagas{invAb}	1885	asUfscuauCfaaaggAfaGfagcucususu	1886
2419	usgsuagcAfaGfAfGfGfuguuuuas{invAb}	1887	asUfsaauAfcaccucUfuGfcuacususu	1888
2420	gsusuacgAfaAfAfAfAfcuauugguus{invAb}	1889	asAfsaccaUfaguuuUfuCfguuacsusu	1890
2421	ascsuauGfUfGfUfGfuccgagugs{invAb}	1891	asCfsacucGfgacacaAfcCfauagususu	1892
2422	asusauuuAfgAfAfAfGfccaaagucs{invAb}	1893	usGfsacuuUfggcuuUfuAfaauasusu	1894
2423	gsusuucCfaAfCfAfGfugauggcus{invAb}	1895	asAfsaccaUfcacuguUfgGfaaaacsusu	1896
2424	usasugaCfuAfUfCfUfGfcugcucas{invAb}	1897	asUfsgagcAfgcagauAfgUfcauvasusu	1898
2425	asuscaaaGfcAfCfCfAfuacauugcs{invAb}	1899	asGfscuuGfuauuggUfcUfuugaususu	1900
2426	asasagcaCfcAfUfAfCfauugcuucs{invAb}	1901	usGfsaagcAfaugvauGfgUfgcuuusus	1902
2427	ascscuugAfuCfCfAfuafagcuuggs{invAb}	1903	asCfscaagCfuuauggAfuCfaaggusus	1904
2428	cscsuaaGfcUfUfGfGfggcuucucs{invAb}	1905	asAfsagaagCfccccaaGfcUfuauugsusu	1906
2429	ususcuaCfGfCfGfAfgagcucgas{invAb}	1907	asUfscgagCfcuucguCfGfuaugaasusu	1908
2430	uscsauacGfaCfGfAfAfggcucgaus{invAb}	1909	asAfsucgaGfcuucgUfcGfuaugasusu	1910
2431	ascsgacgAfaGfGfUfGfugaauas{invAb}	1911	asUfsuuaCfGagccUfuCfugucususu	1912
2432	gsasugaaAfcAfCfCfAfgauggacgs{invAb}	1913	asCfsguccAfuucgguGfuUfucacsusu	1914
2433	gsasaacaCfcAfGfAfUfGfagcggaas{invAb}	1915	usUfsuccUfccaucUfgUfguuucsusu	1916
2434	asusagagCfuUfUfGfCfuccauuggs{invAb}	1917	asCfscuuGfgagcaaAfgCfcuauasusu	1918
2435	uscscuagGfGfCfAfUfAfuaguuuaggs{invAb}	1919	asUfsucaCfuauaugCfcCfauggasusu	1920
2436	asusgggcAfuAfUfAfGfufuaguuuas{invAb}	1921	asUfsaauCfaacuauAfuGfccauasusu	1922
2437	asusauagUfuGfAfUfUfucuuucgas{invAb}	1923	asUfscgaaGfuauuucAfaCfuauasusu	1924
2438	asusuucUfgGfAfUfUfacaugaas{invAb}	1925	asUfsucaUfguaucCfcAfgaaasusu	1926
2439	csusgugaGfaUfGfUfUfcaucagugs{invAb}	1927	asCfsacugAfgaacaUfcUfcacagsusu	1928
2440	gsasaacuUfaCfAfAfUfGfcacuuuas{invAb}	1929	asUfsaaagUfgcauugUfaAfguuucsusu	1930
2441	csusuacaAfuGfCfAfCfuuuagcgcs{invAb}	1931	usGfscguAfaagugcAfuUfguaagsusu	1932
2442	ususacaaUfgCfAfCfUfuuaagcgcas{invAb}	1933	asUfsgcgUfaaagugCfaUfugaasusu	1934
2443	ascsaugCfaCfUfUfUfagcgagcs{invAb}	1935	usAfsucgCfGcuuagUfgCfauugusus	1936
2444	usgscacuUfuAfGfCfGfcagaaaggs{invAb}	1937	asCfscuuCfugcgcuAfaAfgugcasusu	1938
2445	gscsacuuUfaGfCfGfCfagaaggs{invAb}	1939	asCfscuuAfcugcgcuUfaAfgugcsusu	1940
2446	ususuagcGfcAfGfUfAfgggcuugs{invAb}	1941	asCfsaagCfcuuacuGfcGfcuaasusu	1942
2447	ususagcgCfaGfUfAfAfgggcuugs{invAb}	1943	asCfscaagCfcuuacUfgCfGcuuacsusu	1944
2448	csgscaguAfaGfGfGfCfuuggcaucs{invAb}	1945	asGfsaugcCfaagcccUfuAfcugcsusu	1946
2449	ascscagCfaUfUfGfCfccaaacuas{invAb}	1947	asUfsaguuUfgggcaaUfgCfugggusus	1948
2450	asusugccCfaAfCfUfUfauuuuagcs{invAb}	1949	usGfsucaAfaauaguUfgGfGcaasusu	1950
2451	usugcccAfaAfCfUfUfuuuuagacs{invAb}	1951	asUfsgucaAfaauaguUfuGfggcaasusu	1952
2452	usgsuagAfuAfGfUfUfuuuaggs{invAb}	1953	usCfscuuAfaagaacuAfuCfuuaasusu	1954
2453	usasggugAfuCfGfGfAfgcucuuucs{invAb}	1955	asGfsaaagAfguccgAfuCfaccuasusu	1956
2454	asgsugaUfcGfGfAfgfcucuuuucs{invAb}	1957	asGfsgaaGfagcuccGfaUfcaccusus	1958

【 0 1 9 6 】

10

20

30

40

50

10

20

30

【表 2 - 1 3】

2497	gsusgugUfaGfGfUfAfacgugugs{invAb}	2043	asCfscacaCfguuaccUfaCfagcacsusu	2044
2498	usgscagaUfaAfcfAfcfuugggggs{invAb}	2045	usCfscaccCfaaguguUfaUfcugcasusu	2046
2499	gsasacagCfcCfCfAfAfugauccugs{invAb}	2047	asCfsaggaUfcuuuggGfgCfugucsususu	2048
2500	asasugauCfcUfGfGfCfuuuuucacs{invAb}	2049	asGfsugaaAfaagccaGfgAfucuuususu	2050
2501	csgsuauCfGfAfUfAfcuuggaugs{invAb}	2051	usCfsauccAfuguaauCfuGfauacgsusu	2052
2502	ascsaugaCfaGfGfAfCfcuauuguus{invAb}	2053	asAfsacgaUfagguccUfgUfcuugususu	2054
2503	usgsacagGfaCfCfUfAfucguugags{invAb}	2055	asCfsucaaCfauaggUfcCfugucasusu	2056
2504	asgsgaccUfaUfCfGfUfugagguuus{invAb}	2057	asAfsaaccUfcaacgaUfaGfguccususu	2058
2505	uscsuaagAfcUfUfAfcfuaugggcs{invAb}	2059	asAfsgccAfuaagaaGfuCfuuaagsusu	2060
2506	asasgacuUfaCfUfAfUfgggcuuas{invAb}	2061	usUfsacagCfcauagUfaAfgucuuususu	2062
2507	asgsacuuAfcUfAfUfGfggcuuaas{invAb}	2063	usUfsuacaGfcccauaGfuAfgucsususu	2064
2508	gsascuuuAfcUfGfGfGfcuguaaas{invAb}	2065	asUfsuuacAfgcccauAfgUfaagucsususu	2066
2509	usasuuuuAfgAfAfAfcfcugagacus{invAb}	2067	asAfsugcuCfagguuuCfuAfaaauasusu	2068
2510	csasuugAfaAfcGfAfGfauuucugas{invAb}	2069	asUfscaagAfauucuuUfuCfaaaugsusu	2070
2511	asasagagAfuUfCfUfUfgaccuuas{invAb}	2071	asAfsuaagGfucaagaAfuCfucuuususu	2072
2512	asasgagaUfuCfUfUfGfaccuuauus{invAb}	2073	asAfsauaaGfgucaagAfaUfcucuuususu	2074
2513	csusugauGfgAfAfcGfGfauuaaacs{invAb}	2075	asGfsuuuaAfuaacuuCfcAfucaagsusu	2076
2514	ususgaugGfaAfcGfUfauuaaacus{invAb}	2077	usAfsguuuAfuaacuuUfcCfaucaasusu	2078
2515	usasuuuaAfcUfAfUfUfugccguus{invAb}	2079	asAfsacagGfcaauaGfuUfuaauasusu	2080
2516	gsusguauUfgCfAfAfcGfaaacacags{invAb}	2081	usCfsugugUfuucuuGfAfuacacsusu	2082
2517	asgsaaaaAfuCfUfCfAfaccuaagus{invAb}	2083	asAfsuuuGfgguagAfuUfuuuususu	2084
2518	gsasuaacAfcUfUfGfGfgggaccus{invAb}	2085	asAfsggucCfccccaaGfuGfuuaucsususu	2086
2519	usgsaguuUfaUfUfAfAfagauugacs{invAb}	2087	usGfsucaaUfcuuuaaUfaAfacucacusu	2088
2520	asasagauUfgAfCfAfUfuuaaaguas{invAb}	2089	asUfsacuuAfaaaguCfaAfucuuususu	2090
2521	asasgauUgfaCfAfUfUfuuaaguacs{invAb}	2091	usGfsuacuUfaaaugUfcAfauucuuususu	2092
2522	usasaauuGfuUfGfGfUfauauuauus{invAb}	2093	asGfsauaaUfauaccaAfcAfaauuasusu	2094
2523	gsusucauAfgAfUfCfCfcauuuugas{invAb}	2095	asUfscaauAfugggauCfuAfugaacsusu	2096
2524	asgscuuGfcCfCfAfAfacuauuuus{invAb}	2097	asAfsaaaUfguuuggGfcAfauucususu	2098
2525	asasagccAfaAfcUfCfagaacccgs{invAb}	2099	asCfsgguUfcugacuUfuGfgcuususu	2100
2526	{sGalNac3}ggcgaaUfgUfUfUfuuaauucas{invAb}	2373	usUfsgauaUfaaauaaCfaUfuccgcsusu	2374
2527	{sGalNac3}cagcgaGfaUfUfGfCfuaccugaas{invAb}	2375	asUfsucagGfuagcaaUfcUfcgucgsusu	2376
2528	{sGalNac3}acgaaUfuGfCfCfGfucucguus{invAb}	2377	asAfsacagAfagcggaAfaFuucgususu	2378
2529	{sGalNac3}accucaGfcCfUfCfUfauucgcaas{invAb}	2379	asUfsugcgAfaugagGfcUfgaggususu	2380
2530	{sGalNac3}aucaaaAfgCfCfGfUfuaacaaags{invAb}	2381	asCfsuuugUfuaacggCfuUfuugaususu	2382
2531	{sGalNac3}uagcuAfaUfUfUfuaaugggas{invAb}	2383	asUfscacaUfuaaaaaUfgUfagcuasusu	2384
2532	{sGalNac3}uucagaAfgAfUfGfUfaguaaugcs{invAb}	2385	usGfscuuAfcuacauCfuUfcugaasusu	2386
2533	{sGalNac3}agcgauGfuUfAfcCfagcuauacs{invAb}	2387	asGfsuuaGfcugguaAfcAfagcucsususu	2388
2534	{sGalNac3}guguuaUfuAfcGfAfafuguuacgas{invAb}	2389	usUfscguaAfcuuuAfaUfaacacsusu	2390
2535	{sGalNac3}uccuaaCfuUfGfAfUfuaugcuas{invAb}	2391	asUfscaagCfuauucaAfgUfuaggasusu	2392
2536	{sGalNac3}cauuaGfuUfGfAfAfuaucucgs{invAb}	2393	usCfsgaagUfaauucaAfcUfaauugsusu	2394
2537	{sGalNac3}gggcuaAfuAfcUfUfuaauuacgs{invAb}	2395	asAfsguuaUfucaacuAfuAfugcccsusu	2396
2538	{sGalNac3}jugauCfcCfAfcGfAfcaucucgas{invAb}	2397	asUfscaagAfugucugGfgAfugacacusu	2398

【 0 1 9 8 】

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 4】

2539	{sGalNac3}uacgaaAfaAfCfUfUfagguugus(invAb)	2399	asAfscaacCfauaguuUfuUfucguasusu	2400
2540	{sGalNac3}cugccuUfgCfCfAfGfAcuuuuas(invAb)	2401	asUfsaaaaUfgucuggCfaAfggcagsusu	2402
2541	{sGalNac3}uuuuguCfaGfUfUfGfugguagaus(invAb)	2403	usAfsucuaCfcacaacUfgAfcaaaasusu	2404
2542	{sGalNac3}agaauUfuAfCfGfAfaaaacuas(invAb)	2405	asUfsaguuUfuuuuguAfaCfauucususu	2406
2543	{sGalNac3}uguauUfuGfAfGfUfgcucugus(invAb)	2407	usCfsacagAfgcacucAfuAfuuacususu	2408
2544	{sGalNac3}cacuuUfuGfAfCfAfuggaugaas(invAb)	2409	asUfsucauCfcaugucAfcAfaagugsusu	2410
2545	{sGalNac3}auuuggGfaUfUfUfAfcacuuugus(invAb)	2411	asAfscaaaGfuguaauUfcCfcaaaususu	2412
2546	{sGalNac3}auagcuGfaGfUfCfCfugaaguuus(invAb)	2413	asAfsaacuUfcaggacUfcAfgcuasusu	2414
2547	{sGalNac3}cugaccCfuUfGfGfUfacaauagas(invAb)	2415	asUfscuauUfguaccaAfgGfgucagsusu	2416
2548	{sGalNac3}uaauCfCfUfGfUfuggaauas(invAb)	2417	usUfsauuuCfcaaucaGfuCfauuauasusu	2418
2549	{sGalNac3}aacugaUfaGfCfUfGfaguccugas(invAb)	2419	usUfscaggAfcucagcUfaUfcaguususu	2420
2550	{sGalNac3}cagcacAfuGfAfUfUfugggaauus(invAb)	2421	usAfsauucCfcaaaucAfuGfugcugsusu	2422
2551	{sGalNac3}acaugaUfuUfGfGfGfaauuacacs(invAb)	2423	asGfsuguaAfuucccaAfaUfcaugususu	2424
2552	{sGalNac3}cagaauAfcAfGfUfGfuggucgas(invAb)	2425	asUfscgacCfaacacuGfuAfuucugsusu	2426
2553	{sGalNac3}cccagaCfaUfCfUfUfgauaaucacs(invAb)	2427	asGfsuauuAfucaagaUfgUfcugggsusu	2428
2554	{sGalNac3}ucuugaUfaUfUfCfCfuguggas(invAb)	2429	usUfsccaaCfagguauUfaUfcaagasusu	2430
2555	{sGalNac3}uguuuUfaGfAfUfUfguuacgaas(invAb)	2431	usUfscguAfacaauUfaAfuuaacasusu	2432
2556	{sGalNac3}uguuacGfaAfAfAfafacuauuggus(invAb)	2433	asAfsccauAfguuuuUfcGfuaacasusu	2434
2557	{sGalNac3}uuacgaAfaAfAfAfCfuauugguugs(invAb)	2435	asCfsaaccAfuaguuUfuUfcguasusu	2436
2558	{sGalNac3}aggauUfuUfUfUfGfaagccaas(invAb)	2437	usUfsuggcUfuucuaaAfuAfuuccususu	2438
2559	{sGalNac3}acgaagGfaGfGfUfUfgauugcaas(invAb)	2439	usUfsgucaAfucaaccUfcCfuucgususu	2440
2560	{sGalNac3}uguuuUfcAfAfCfAfgugaggcs(invAb)	2441	asGfscacuCfaguuGfgAfaaacasusu	2442
2561	{sGalNac3}cauagGfuUfAfAfAfcaaacuags(invAb)	2443	asCfsuaguUfuguuuAfcCfuuaugsusu	2444
2562	{sGalNac3}ggcaggAfaGfAfUfguucucuas(invAb)	2445	asUfsagagAfacaucUfuCfcguccsusu	2446
2563	{sGalNac3}ggaaUGfuGfUfUfGfaacuguuas(invAb)	2447	usUfsaacaGfuucuaCfcafuuccsusu	2448
2564	{sGalNac3}auaguuGfaUfUfUfAfcuucgacas(invAb)	2449	asUfsgucgAfguaauUfcAfacuasusu	2450
2565	{sGalNac3}ucuucGfaCfUfCfAfacuucucacs(invAb)	2451	usGfsuagaAfguugagUfuCfagaasusu	2452
2566	{sGalNac3}cuucgaAfcUfCfAfAfcuucucacs(invAb)	2453	asUfsguagAfguugaGfuUfcgaagsusu	2454
2567	{sGalNac3}uuccugUfuUfUfUfUfgucugucacs(invAb)	2455	asGfsuacaGfacaauAfaCfaggaasusu	2456
2568	{sGalNac3}cagguaCfaGfCfUfGfuucuggs(invAb)	2457	usCfscaagAfaacagcUfgUfaccugsusu	2458
2569	{sGalNac3}ccuaaUfuGfAfUfUfagcuugags(invAb)	2459	asCfsucaGfcaauAfaGfuuaagsusu	2460
2570	{sGalNac3}cgugcaCfaAfCfCfUfguccaguas(invAb)	2461	asUfsacugGfagagguUfgUfgcacgsusu	2462
2571	{sGalNac3}caguauAfuGfCfAfUfguggugcs(invAb)	2463	asGfscaccCfcaugcAfuAfuacugsusu	2464
2572	{sGalNac3}accaugAfcUfUfUfUfaacaaauus(invAb)	2465	asAfsauuuGfuuaaaaGfuCfauugususu	2466
2573	{sGalNac3}acaugUfgGfUfAfAfauaaauaus(invAb)	2467	asAfsuaauUfauuuacCfaCfuauugsusu	2468
2574	{sGalNac3}cauaguGfgUfAfAfAfuaauuauugs(invAb)	2469	usCfsauaaUfuaauuaCfcafuauugsusu	2470
2575	{sGalNac3}auuuuuCfCfAfGfUfgaguguuus(invAb)	2471	asUfsaacaCfcaucUfgAfaaaususu	2472
2576	{sGalNac3}gggaugCfuGfAfUfUfgauuuuucs(invAb)	2473	usGfsaauuAfucauacAfgCfaucccsusu	2474
2577	{sGalNac3}ucuaaGfuUfCfUfGfcauuuaas(invAb)	2475	usUfsuuaaAfuagagaAfcUfugagasusu	2476
2578	{sGalNac3}uuccauUfuUfAfCfUfgacuagggs(invAb)	2477	asCfscuaGfucaguaAfaAfuaggaasusu	2478
2579	{sGalNac3}caguuUfuCfAfCfCfuucuuacacs(invAb)	2479	asUfsguaaGfaaggugAfuAfaacugsusu	2480
2580	{sGalNac3}cgacaaAfaAfCfUfUfcaagauas(invAb)	2481	asUfsauucUfagaaguUfuUfugucgsusu	2482

10

20

30

40

【 0 1 9 9 】

50

【表 2 - 1 5】

2581	{sGalNac3}auauauUfcUfGfAfGfuuuugugs{invAb}	2483	asCfscacaAfaacucaGfaAfuauaususu	2484
2582	{sGalNac3}aagauCfcUfGfGfCfuuuuucacs{invAb}	2485	asGfsugaaAfaagccaGfgAfucuuususu	2486
2583	{sGalNac3}ugacagGfaCfCfUfAfucguugags{invAb}	2487	asCfsucaaCfGauaggUfcCfugucasusu	2488
2584	{sGalNac3}uaugggUfuAfUfUfGfccuaaacs{invAb}	2489	asGfsuuuaGfgcauuAfaCfccuauasusu	2490
2585	{sGalNac3}uaauugGfuAfGfGfUfgccuuuugs{invAb}	2491	asCfsaaaaGfgaccuAfcCfaauuasusu	2492
2586	{sGalNac3}acuauGfuUfGfUfGfuccgagugs{invAb}	2493	asCfsacucGfgacacaAfcCfaugususu	2494
2587	{sGalNac3}aagacuUfaCfUfAfUfgggcuguas{invAb}	2495	usUfsacagCfccauagUfaAfgucuuususu	2496
2588	{sGalNac3}gacuuuCfuAfUfGfGfgcuguuaas{invAb}	2497	asUfsuuacAfgcccaUfGfuaagucsusu	2498
2589	{sGalNac3}uaauuAfaGfGfAfUfuacucaags{invAb}	2499	asCfsuugaGfuaauccUfuAfaauuasusu	2500
2590	{sGalNac3}caaccaAfaGfUfUfUfGfccucaacs{invAb}	2501	asGfsaugaGfcuaaacUfuUfgguugsusu	2502
2591	{sGalNac3}uagacuAfcAfGfGfAfugaaaucacs{invAb}	2503	asAfsuguUfcaucuGfuAfgucuasusu	2504
2592	{sGalNac3}caauagUfaGfCfUfAfcauuuuuas{invAb}	2505	usUfsaaaaAfuguagcUfaCfuauugsusu	2506
2593	{sGalNac3}aaaagcCfGfUfUfAfcaaaugags{invAb}	2507	usUfscacuUfuguuaaCfGfCfuuuususu	2508
2594	{sGalNac3}aaagccGfuUfAfAfCfaaagugaas{invAb}	2509	usUfsucacUfuuguuaAfcGfgcuuuususu	2510
2595	{sGalNac3}cauagaUfcCfCfAfUfaugacuacs{invAb}	2511	asUfsagucAfaauaggGfaUfcuauugsusu	2512
2596	{sGalNac3}accuugAfuCfCfAfUfaagcuuugs{invAb}	2513	asCfscagCfuuaaggAfuCfaaggususu	2514
2597	{sGalNac3}uucuaaCfGfCfGfAfagggcucgas{invAb}	2515	asUfscgagCfcuucguCfGfauugaasusu	2516
2598	{sGalNac3}uccaugGfGfAfUfAfuauguuugs{invAb}	2517	asUfsucaaCfuauaugCfcCfauggasusu	2518
2599	{sGalNac3}augggcAfuAfUfAfGfuuguauuas{invAb}	2519	asUfsauuUfcaucuAfuGfccaususu	2520
2600	{sGalNac3}auauagUfuGfAfAfUfuacuucgas{invAb}	2521	asUfscgaaGfuaauuAfaCfuauaususu	2522
2601	{sGalNac3}cuuacaAfuGfCfCfCfuuuagcgcs{invAb}	2523	usGfscgcUfAfaagugCfuUfguaagsusu	2524
2602	{sGalNac3}uuacaaUfgCfAfCfUfuagcgcas{invAb}	2525	asUfsgcgCfAfaagugCfaUfuguasusu	2526
2603	{sGalNac3}acaauGfCfUfUfUfagcgagcs{invAb}	2527	usAfsugcGfcuaaagUfgCfaugususu	2528
2604	{sGalNac3}uuuagcGfCfGfUfAfagggcuugs{invAb}	2529	asCfsaagcCfcuacuGfGfcaaaasusu	2530
2605	{sGalNac3}auugccCfaAfAfCfUfauuuuagcs{invAb}	2531	usGfsucaaAfauguUfGfGfcaaususu	2532
2606	{sGalNac3}aggugaUfcGfGfAfGfcuuuucacs{invAb}	2533	asGfsgaaaGfaguccGfaUfcaccususu	2534
2607	{sGalNac3}uaauagUfgAfAfUfUfacuugacs{invAb}	2535	usGfsucgaAfguaauCfaAfcuauasusu	2536
2608	{sGalNac3}ugaauUfcUfUfCfGfagcagcs{invAb}	2537	usGfscugCfGfugaaGfuAfaucasusu	2538
2609	{sGalNac3}uuugucAfgUfUfGfUfgguagauas{invAb}	2539	asUfsauUfcaacaCfuGfcaaaasusu	2540
2610	{sGalNac3}cuugauGfGfAfGfGfuaauaacs{invAb}	2541	asGfsuuuaAfuaccuUfcAfucaagsusu	2542
2611	{sGalNac3}guguauUfgCfAfGfGfaaacacags{invAb}	2543	usCfsugugUfuucugCfaAfuacacsusu	2544
2612	{sGalNac3}agaaaaAfuCfUfCfAfaccaagcs{invAb}	2545	asAfsuuUfgguagAfuUfuuuususu	2546
2613	{sGalNac3}aagaaaGfcCfUfAfAfugagucgcs{invAb}	2547	usCfscgacUfcauagGfCfuucuuususu	2548
2614	{sGalNac3}ugcggaAfuGfUfUfAfuuuuuacs{invAb}	2549	usGfsauuAfaauaacAfuUfccgcasusu	2550
2615	{sGalNac3}uuuuuAfaGfAfGfGfagagugcs{invAb}	2551	asCfsacauCfucgcuUfuGfaauaasusu	2552
2616	{sGalNac3}aagagCfGfAfUfGfGfcauagcs{invAb}	2553	asCfsuuuGfcacauUfcGfucuuususu	2554
2617	{sGalNac3}auguuUfcCfAfCfCfaaugagcs{invAb}	2555	asGfsucacAfuuggugCfCfaacaasusu	2556
2618	{sGalNac3}acaugaUfuUfGfGfGfaauuacacs{invAb}	2557	asGfsuguaauuccCfaAfaUfcaugususu	2558
2619	{sGalNac3}augaUfuUfGfGfGfaauuacacs{invAb}	2559	asGfsuguaAfuucccaAfaUfcaususu	2560
2620	{sGalNac3}acauguuUfgGfGfAfAfuuacacs{invAb}	2561	asGfsuguaAfuucccaAfaUfcaugususu	2562
2621	{sGalNac3}auguuUfgGfGfAfAfuuacacs{invAb}	2563	asGfsuguaAfuucccaAfaUfcaususu	2564
2622	{sGalNac3}auuuuuCfCfGfAfUfgaguguas{invAb}	2565	asUfsaacacucUfGfGfGfaaaasusu	2566

【 0 2 0 0 】

10

20

30

40

50

10

20

30

【表 2 - 1 7】

2665	{sGalNAc3}caguuuAfuCfAfCfCfuucuuacac{invAb}	2729	asUfsguaagaaggUfgAfuAfaacugsusu	2730
2666	{sGalNAc3}caguuuauCfAfCfUfUfcuuacac{invAb}	2731	asUfsguaaGfaaggUfgAfuAfaacugsusu	2732
2667	{sGalNAc3}caguuuAfuCfAfCfCfuucuuacac{invAb}	2733	asUfsguaagaaggUfgAfuAfaacugsusu	2734
2668	{sGalNAc3}guuuAfuCfAfCfCfuucuuacac{invAb}	2735	asUfsguaaGfaaggugAfuAfaacugsusu	2736
2669	{sGalNAc3}caguuuAfuCfAfCfCfuucuuacac{invAb}	2737	asUfsguaaGfaaggUfgAfuAfaacugsusu	2738
2670	{sGalNAc3}caguuuauCfAfCfCfuucuuacac{invAb}	2739	asUfsguaaGfaaggugAfuAfaacugsusu	2740
2671	{sGalNAc3}guguuuuAfgAfAfUfGfuucacgas{invAb}	2741	usUfscguaAfcauuCfuAfaUfaacacsusu	2742
2672	{sGalNAc3}guguuaUfuAfgAfAuguuacgas{invAb}	2743	usUfscguaacauuCfuAfaUfaacacsusu	2744
2673	{sGalNAc3}guuaUfuAfGfAfAfuuuacgaasus{invAb}	2745	usUfscguaAfcauucuAfaUfaacacsusu	2746
2674	{sGalNAc3}guguuaUfuAfGfAfAfuuuacgas{invAb}	2747	usUfscguaAfcauuCfuAfaUfaacacsusu	2748
2675	{sGalNAc3}guguuuuAfgAfAfAfuuuacgas{invAb}	2749	usUfscguaAfcauucuAfaUfaacacsusu	2750
2676	{sGalNAc3}uauaguugAfaUfUfAfCfuucgac{invAb}	2751	usGfsucgaAfguaaUfuCfaacuauasusu	2752
2677	{sGalNAc3}uauaguUfgAfaUfuacuucgac{invAb}	2753	usGfsucgaaguaaUfuCfaAfcuauasusu	2754
2678	{sGalNAc3}uaguUfgAfAfUfUfacuucgacac{invAb}	2755	usGfsucgaAfguaauuCfaAfcuauasusu	2756
2679	{sGalNAc3}uauaguUfgAfAfUfUfacuucgac{invAb}	2757	usGfsucgaAfguaaUfuCfaAfcuauasusu	2758
2680	{sGalNAc3}uauaguugAfAfUfUfacuucgac{invAb}	2759	usGfsucgaAfguaauuCfaAfcuauasusu	2760
2681	{sGalNAc3}ugucauccCfAfGfAfCfuucugac{invAb}	2761	asUfscaagAfuugucUfgGfgaugacac{invAb}	2762
2682	{sGalNAc3}ugucauUfCfCfAfGfAfcauucugac{invAb}	2763	asUfscaagaugucUfgGfgAfugacac{invAb}	2764
2683	{sGalNAc3}ucauUfCfCfAfGfAfcauucugac{invAb}	2765	asUfscaagAfuugucUfgGfgAfugacac{invAb}	2766
2684	{sGalNAc3}ugucauUfCfCfAfGfAfcauucugac{invAb}	2767	asUfscaagAfuugucUfgGfgAfugacac{invAb}	2768
2685	{sGalNAc3}ugucauccCfAfGfAfcauucugac{invAb}	2769	asUfscaagAfuugucUfgGfgAfugacac{invAb}	2770
2686	{sGalNAc3}aacugauaGfcUfGfAfGfuccugac{invAb}	2771	usUfscaggAfcucaGfcUfaucaugususu	2772
2687	{sGalNAc3}uagcuacaUfuUfUfUfAfaugggac{invAb}	2773	asUfscagaUfuuaaAfaUfgUfagcuasusu	2774
2688	{sGalNAc3}acaugauuUfgGfGfAfAfuacac{invAb}	2775	asUfscagaUfuuaaAfaUfgUfagcuasusu	2776
2689	{sGalNAc3}auuuuuuccAfgAfUfGfAfguguuac{invAb}	2777	asUfscagaUfuuaaAfaUfgUfagcuasusu	2778
2690	{sGalNAc3}aacugaUfaGfcUfgaguccugac{invAb}	2779	usUfscaggacucaGfcUfaUfcaguususu	2780
2691	{sGalNAc3}uagcuacaUfuUfUfUfAfaugggac{invAb}	2781	asUfscagaUfuuaaAfaUfgUfagcuasusu	2782
2692	{sGalNAc3}acaugaUfuUfgGfgaauuacac{invAb}	2783	asUfscagaUfuuaaAfaUfgUfagcuasusu	2784
2693	{sGalNAc3}auuuuuCfCfAfGfAfugaguguuac{invAb}	2785	asUfscagaUfuuaaAfaUfgUfagcuasusu	2786
2694	{sGalNAc3}cugaUfaGfCfUfGfaguccugaac{invAb}	2787	usUfscaggAfcucagcUfaUfcagsusu	2788
2695	{sGalNAc3}gcucaCfaUfUfUfUfuaaugggac{invAb}	2789	asUfscagaUfuuaaAfaUfgUfagcuasusu	2790
2696	{sGalNAc3}augaUfuUfGfGfGfaauuacac{invAb}	2791	asUfscagaUfuuaaAfaUfgUfagcuasusu	2792
2697	{sGalNAc3}uuuuCfCfAfGfAfUfgaguguuac{invAb}	2793	asUfscagaUfuuaaAfaUfgUfagcuasusu	2794
2698	{sGalNAc3}aacugaUfaGfCfUfGfaguccugac{invAb}	2795	usUfscaggAfcucaGfcUfaUfcaguususu	2796
2699	{sGalNAc3}uagcuacaUfuUfUfUfuaaugggac{invAb}	2797	asUfscagaUfuuaaAfaUfgUfagcuasusu	2798
2700	{sGalNAc3}acaugaUfuUfGfGfGfaauuacac{invAb}	2799	asUfscagaUfuuaaAfaUfgUfagcuasusu	2800

10

20

30

40

【0202】

実施例 2：RNA FISH アッセイにおける選択した GPAM siRNA 分子の有効性

実施例 1 からの完全に化学修飾された siRNA のパネルを調製して、mRNA ノックダウンの効力及び選択性をインビトロで試験した。各 siRNA 二重鎖は、2つの鎖であるセンス鎖又は「パセンジャー」鎖及びアンチセンス鎖又は「ガイド」鎖からなった。

【0203】

RNA FISH（蛍光インサイチュハイブリダイゼーション）アッセイを実行して、GPAM mRNA ノックダウンを試験 siRNA によって測定した。HepG2 細胞（ATCC HB-8065）を、10%ウシ胎児血清（FBS、シグマ）及び1%ペニシ

50

リンーストレプトマイシン（P-S、コーニング）を補充したイーグル最小必須培地（EMEM）（ATCC（登録商標）30-2003（商標））中で培養した。リポフェクタミンRNAiMAXトランスフェクション試薬（Thermo Fisher Scientific）を用いて、逆トランスフェクションによりsiRNAを細胞にトランスフェクトした。Bravo自動液体処理プラットフォーム（Agilent）によって、1 μ Lの試験siRNA（500 nMの最終濃度で開始する1：3希釈で投与された10データポイント中）又はリン酸緩衝生理食塩水（PBS）ビヒクル及び4 μ Lのサプリメントを含まないプレーンEMEMをPDL被覆CellCarrier-384 Ultraアッセイプレート（PerkinElmer）に加えた。続いて、補充なしのプレーンEMEMに前希釈した5 μ LのLipofectamine RNAiMAX（Thermo Fisher Scientific）（5 μ LのEMEM中0.06 μ LのRNAiMAX）を、Multidrop Combi試薬分注器（Thermo Fisher Scientific）によってアッセイプレート中に分注した。室温（RT）でsiRNA／RNAiMAX混合物を20分インキュベートした後、10% FBS及び1% P-Sを補充したEMEM中の30 μ LのHepG2細胞（1ウェルあたり2000個の細胞）を、Multidrop Combi試薬分注器を使用してトランスフェクション複合体に添加した。アッセイプレートを、インキュベーターに入れる前にRTで20分間インキュベートした。細胞を、37℃、5% CO₂にて72時間インキュベートした。

10

【0204】

RNA FISHアッセイを、自社内で組み立てた自動FISHアッセイプラットフォーム上で、製造者のアッセイ試薬及びプロトコル（Thermo Fisher ScientificからのQuantigene（登録商標）ViewRNA HC Screening Assay）を用いて、siRNAトランスフェクションから72時間後に実施した。簡潔に言えば、細胞を4%ホルムアルデヒド（Thermo Fisher Scientific）中でRTにて15分間固定して、界面活性剤によりRTにて3分間透過処理してから、プロテアーゼ溶液によりRTで10分間処理した。標的特異的プローブ（Thermo Fisher Scientific、VA6-3170392-VC（GPAM）及びVA1-10148-VC（PP1B）又はビヒクル（陰性対照として標的プローブを含まない標的プローブ希釈剤）を3時間インキュベートし、一方でプリアンプリファイアー、アンプリファイアー及び標識プローブを各1時間インキュベートした。全てのハイブリダイゼーション工程を、Cytomat 2 C-LIN自動インキュベーター（Thermo Fisher Scientific）内で40℃で実施した。

20

30

【0205】

ハイブリダイゼーション反応後、細胞をHoechst及びCellMask Blue（Thermo Fisher Scientific）で30分間染色してから、Opera Phenixハイコンテンツスクリーニングシステム（PerkinElmer）で画像化した。画像を、Columbus image data storage and analysis system（PerkinElmer）を用いて分析して、1細胞あたりの平均スポット数を得た。高（標的プローブを含むPBS）及び低（標的プローブを含まないPBS）対照ウェルを用いて、1細胞あたりの平均スポット数を正規化した。高対照及び低対照は、それぞれ100及び0の正規化された値を有する。試験siRNA濃度に対する正規化された値を、Genedata Screenerデータ解析ソフトウェア（Genedata, Basel, Switzerland）を使用して4パラメータシグモイドモデルに当てはめて、IC₅₀値及び最大活性を得た。

40

【0206】

アッセイの結果を表3に示す。GPAMノックダウンは、対照サンプルと比較したノックダウンのパーセンテージを提供する。負の値は、GPAMレベルの低減を示す。

【0207】

50

【表 3 - 1】

表3. ヒト/Cyno GPAMを含むsiRNAを用いたRNA FISHアッセイ

二重鎖番号	IC50 (nM)	GPAM ノックダウン(%)	二重鎖番号	IC50 (nM)	GPAM ノックダウン(%)
2001		-18.1	2021	2.55	-75.4
2002	14.70	-65.0	2022	1.43	-68.6
2003	19.30	-56.7	2023		-17.6
2004	14.00	-56.4	2024	2.45	-84.1
2005	35.60	-66.7	2025	1.84	-89.7
2006	10.94	-86.0	2026	6.65	-85.6
2007	7.32	-84.5	2027	1.70	-88.5
2008	20.30	-64.1	2028	6.58	-86.2
2009	15.40	-70.9	2029	2.71	-57.9
2010	4.87	-90.6	2030	4.26	-75.4
2011	7.84	-85.4	2031	7.42	-82.5
2012	9.94	-73.5	2032	1.33	-94.2
2013	8.85	-74.4	2033	8.79	-53.7
2014	5.80	-70.9	2034		5.9
2015	5.18	-82.0	2035	5.10	-73.6
2016	5.27	-72.3	2036	2.42	-89.1
2017	2.00	-62.2	2037	3.29	-73.7
2018	0.61	-71.5	2038	26.40	-65.5
2019	4.48	-74.8	2039	5.64	-66.4
2020	1.78	-70.6	2040	2.81	-84.4

【 0 2 0 8 】

【表 3－2】

二重鎖番号	IC50 (nM)	GPAM ノックダウン(%)	二重鎖番号	IC50 (nM)	GPAM ノックダウン(%)
2041	8.27	-66.0	2081		-58.9
2042	2.62	-57.4	2082		-47.9
2043		-65.7	2083	58.10	-65.7
2044		5.9	2084	64.90	-62.9
2045	1.68	-82.0	2085	3.55	-69.6
2046	1.51	-66.2	2086	2.43	-85.5
2047	4.21	-64.4	2087	45.20	-72.9
2048	25.60	-44.6	2088	0.54	-77.4
2049	22.20	-78.8	2089	76.90	-74.5
2050	2.67	-84.5	2090	5.37	-56.5
2051	0.58	-78.2	2091		-49.0
2052		-36.3	2092	114.00	-56.0
2053		-28.8	2093		-40.9
2054	127.00	-48.6	2094		-50.9
2055	4.92	-69.5	2095		-0.4
2056	2.43	-51.1	2096		-38.9
2057	150.00	-56.3	2097	0.99	-69.8
2058	22.80	-69.1	2098	2.33	-77.2
2059	34.90	-57.7	2099	6.31	-73.1
2060	0.26	-74.5	2100	16.00	-89.4
2061	18.60	-65.7	2101	4.08	-78.8
2062	2.00	-86.3	2102	3.08	-85.5
2063	0.52	-73.3	2103	1.46	-86.9
2064	0.28	-57.0	2104	58.30	-40.0
2065		-34.5	2105		-57.1
2066	32.50	-79.6	2106		-23.7
2067	2.60	-58.2	2107	5.10	-74.1
2068	11.40	-73.6	2108	15.90	-70.3
2069	22.40	-66.8	2109	0.92	-69.5
2070	6.58	-62.6	2110	2.26	-53.0
2071	12.70	-69.8	2111	133.00	-59.9
2072	1.91	-84.8	2112	1.77	-54.6
2073	0.93	-55.8	2113	35.00	-68.7
2074	7.52	-76.9	2114		-46.2
2075		-11.0	2115	2.75	-62.9
2076		-25.1	2116	2.34	-52.9
2077	1.35	-85.1	2117		-42.4
2078	2.97	-85.0	2118	0.23	-52.1
2079	55.20	-66.0	2119	34.30	-69.2
2080		-31.4	2120	4.32	-72.7

【 0 2 0 9 】

10

20

30

40

【表 3 - 3】

二重鎖番号	IC50 (nM)	GPAM ノックダウン(%)	二重鎖番号	IC50 (nM)	GPAM ノックダウン(%)
2121	57.80	-64.5	2161	3.25	-79.5
2122	3.13	-75.2	2162	7.23	-71.8
2123	11.30	-77.7	2163	2.05	-73.7
2124		-14.4	2164	4.76	-87.3
2125	9.25	-45.8	2165	9.73	-86.5
2126	1.84	-83.1	2166	2.34	-82.5
2127	1.51	-92.6	2167	18.70	-63.6
2128	2.41	-84.2	2168	1.81	-80.3
2129	7.48	-78.2	2169	1.64	-91.9
2130	12.70	-60.4	2170	3.93	-78.3
2131	25.40	-77.8	2171	3.39	-87.4
2132	5.98	-77.7	2172	4.91	-87.1
2133	4.44	-70.9	2173	1.47	-79.6
2134	2.97	-59.6	2174	1.41	-79.1
2135	1.50	-84.4	2175	2.09	-86.0
2136	2.13	-65.3	2176	2.55	-81.4
2137	1.48	-76.2	2177	17.00	-46.9
2138	67.80	-67.5	2178	1.03	-87.1
2139		-59.4	2179	1.99	-86.2
2140	12.90	-55.8	2180	3.44	-81.1
2141	2.10	-89.6	2181	2.28	-84.9
2142	12.00	-68.9	2182	1.23	-73.7
2143	1.64	-86.6	2183	3.26	-78.9
2144	4.98	-81.9	2184	1.30	-92.4
2145	2.96	-79.5	2185	1.99	-58.3
2146	4.71	-63.1	2186	2.64	-81.9
2147	2.35	-86.3	2187	3.41	-85.1
2148	1.89	-80.6	2188	2.84	-89.1
2149	5.57	-78.0	2189	2.24	-89.9
2150	1.28	-82.4	2190	2.12	-80.8
2151	1.82	-70.8	2191	2.36	-72.5
2152	1.35	-87.1	2192	7.50	-67.3
2153	2.00	-84.8	2193	1.62	-87.1
2154	3.03	-64.8	2194	1.55	-81.6
2155	7.37	-61.1	2195	1.77	-80.1
2156	2.48	-73.7	2196	2.38	-61.1
2157	2.35	-86.5	2197	1.70	-82.0
2158	1.06	-90.2	2198	11.20	-61.8
2159	8.59	-86.2	2199		2.8
2160	2.10	-81.6	2200	15.40	-73.4

【 0 2 1 0 】

10

20

30

40

【表 3 - 4】

二重鎖番号	IC50 (nM)	GPAM ノックダウン(%)	二重鎖番号	IC50 (nM)	GPAM ノックダウン(%)
2201	1.52	-89.1	2241		-32.3
2202	75.60	-56.0	2242		-48.6
2203	13.10	-66.9	2243		6.3
2204	1.82	-89.2	2244		-19.3
2205	33.40	-59.3	2245	1.46	-89.0
2206	16.63	-88.6	2246	5.15	-67.7
2207	13.50	-67.0	2247	8.42	-82.1
2208	1.39	-66.7	2248	5.96	-79.4
2209	0.49	-72.2	2249	88.50	-50.6
2210		-67.4	2250	3.39	-86.8
2211	2.02	-70.6	2251	3.20	-93.0
2212	19.33	-85.6	2252	7.15	-79.1
2213		-71.4	2253		-52.2
2214	21.33	-79.0	2254	8.31	-84.8
2215	17.25	-77.3	2255	33.50	-59.3
2216	3.12	-84.6	2256	64.70	-53.8
2217	13.40	-62.1	2257	16.68	-84.2
2218		-18.3	2258	69.10	-66.1
2219	1.81	-60.2	2259		-38.1
2220		-8.1	2260		-44.7
2221		-68.6	2261	3.81	-79.1
2222	6.64	-67.0	2262		-16.5
2223	1.68	-91.1	2263	5.39	-89.6
2224	43.80	-64.6	2264	63.20	-60.2
2225	18.80	-79.3	2265		-38.0
2226	71.70	-77.4	2266		-23.8
2227	2.10	-63.4	2267		-23.4
2228	99.60	-61.9	2268	6.41	-58.5
2229		-50.6	2269	2.80	-81.7
2230	16.60	-60.2	2270	1.49	-84.8
2231	7.80	-55.6	2271	4.71	-79.3
2232	3.33	-87.7	2272	94.40	-61.6
2233	4.11	-78.0	2273	0.77	-57.4
2234	2.75	-87.4	2274	15.50	-55.1
2235	2.35	-88.5	2275	3.09	-56.6
2236	7.40	-85.4	2276	35.00	-57.9
2237	2.28	-86.1	2277		-0.7
2238	12.40	-67.0	2278	9.41	-59.1
2239		5.2	2279	5.49	-78.7
2240	8.38	-53.5	2280	85.40	-50.4

【 0 2 1 1 】

10
20
30
40

【表 3－5】

二重鎖番号	IC50 (nM)	GPAM ノックダウン(%)	二重鎖番号	IC50 (nM)	GPAM ノックダウン(%)
2281	2.33	-62.8	2321	15.90	-81.3
2282		-13.8	2322	9.02	-62.9
2283		-42.2	2323	2.17	-77.9
2284		-56.5	2324	2.17	-63.3
2285		-34.3	2325	4.10	-78.3
2286		-17.0	2326		-14.3
2287	97.80	-62.6	2327	3.14	-74.2
2288	7.98	-79.4	2328	1.58	-89.1
2289	4.21	-81.9	2329		10.0
2290	3.67	-88.2	2330		11.7
2291	5.42	-60.6	2331	35.10	-68.9
2292	4.29	-87.2	2332	4.18	-69.1
2293	3.45	-85.5	2333	21.10	-79.4
2294	1.80	-73.6	2334	3.49	-60.7
2295	6.23	-82.1	2335	12.20	-46.7
2296	3.71	-68.0	2336		15.2
2297	14.83	-82.1	2337		-21.6
2298	7.21	-82.8	2338	6.03	-76.4
2299	15.00	-70.7	2339	9.95	-46.6
2300	10.73	-85.9	2340	3.74	-82.1
2301	14.60	-75.9	2341	1.95	-67.4
2302	12.99	-90.5	2342		4.8
2303	5.99	-81.8	2343	2.30	-88.0
2304	15.00	-61.5	2344		5.0
2305	5.72	-48.0	2345	3.36	-87.7
2306	3.01	-76.8	2346	3.51	-79.6
2307	4.95	-74.0	2347		6.6
2308	7.07	-78.6	2348	4.22	-79.7
2309	5.38	-76.5	2349	5.54	-87.0
2310	5.57	-79.3	2350		7.9
2311	41.70	-74.7	2351	17.10	-60.7
2312	23.90	-68.4	2352	0.55	-77.1
2313	13.00	-70.0	2353	8.18	-66.2
2314	168.00	-67.2	2354	14.10	-67.5
2315	18.00	-63.9	2355		-70.3
2316	29.10	-56.1	2356	3.93	-58.3
2317	54.90	-62.9	2357	4.83	-61.7
2318	13.20	-54.6	2358		-70.3
2319	10.10	-60.8	2359	33.70	-60.1
2320		-33.5	2360		-12.9

【 0 2 1 2 】

10

20

30

40

【表 3 - 6】

二重鎖番号	IC50 (nM)	GPAM ノックダウン(%)
2361		-6.3
2362	4.49	-53.8
2363	1.80	-64.1
2364	2.78	-65.8
2365	5.24	-74.5
2366		-55.4
2367		-27.2
2368	1.43	-68.4
2369	37.60	-67.6
2370	0.84	-67.9
2371		-46.9
2372	42.90	-71.3
2373		-31.7
2374	0.54	-47.7
2375	0.57	-59.8
2376		-39.8
2377	2.32	-77.7
2378		-52.1
2379	1.53	-86.3
2380		2.6
2381		-43.1
2382	2.88	-78.3
2383		-37.9
2384		-12.8
2385	14.00	-44.9
2386	98.50	-69.8
2387	25.80	-68.4
2388	1.27	-57.5
2389		6.0
2390		-20.9
2391	3.32	-84.8
2392	9.88	-78.2
2393	1.65	-85.2
2394	4.51	-84.9
2395	3.36	-76.7
2396	3.09	-32.7
2397	4.04	-80.0
2398	3.49	-72.5
2399	7.00	-85.2
2400	4.89	-75.7

二重鎖番号	IC50 (nM)	GPAM ノックダウン(%)
2401	3.33	-51.1
2402	2.76	-81.9
2403	2.11	-84.5
2404	9.06	-64.1
2405	5.22	-35.2
2406	3.07	-94.6
2407	35.40	-55.1
2408	6.99	-73.7
2409	8.04	-72.0
2410	4.60	-82.9
2411	1.69	-78.5
2412	1.97	-78.0
2413	2.20	-81.6
2414	2.41	-72.5
2415	6.32	-78.9
2416		-40.7
2417	1.22	-64.6
2418	1.32	-66.5
2419	15.00	-59.5
2420		-60.5
2421	2.33	-87.1
2422	2.09	-88.8
2423	5.29	-84.1
2424	1.52	-94.0
2425	3.50	-84.5
2426	16.90	-63.1
2427	1.58	-89.3
2428	8.65	-84.4
2429	5.23	-86.1
2430	7.23	-78.8
2431	10.20	-83.2
2432	1.49	-52.4
2433	2.77	-77.1
2434	3.36	-80.5
2435	3.57	-85.5
2436	6.18	-86.4
2437	4.40	-85.6
2438	6.92	-74.4
2439	2.49	-73.9
2440	2.91	-80.0

10

20

30

40

【 0 2 1 3 】

50

【表 3 - 7】

二重鎖番号	IC50 (nM)	GPAM ノックダウン(%)
2441	3.87	-91.0
2442	5.58	-86.2
2443	30.00	-86.0
2444	4.64	-68.0
2445	6.08	-61.1
2446	1.93	-89.0
2447	2.48	-89.1
2448	10.40	-63.5
2449		-42.2
2450	3.44	-85.1
2451	6.83	-71.5
2452	1.90	-68.5
2453	5.22	-78.2
2454	4.29	-89.7
2455	2.57	-91.9
2456	3.24	-91.7
2457	1.69	-93.2
2458	8.29	-83.7
2459	8.21	-77.8
2460	13.90	-86.9
2461	32.80	-57.6
2462	5.93	-82.8
2463	1.83	-83.1
2464	1.84	-87.0
2465	5.03	-90.3
2466	5.26	-86.5
2467	1.66	-91.2
2468	3.18	-79.5
2469	1.80	-87.9
2470	2.73	-73.1
2471	3.10	-87.5
2472	5.24	-73.7
2473	12.40	-79.9
2474	6.12	-76.6
2475	5.46	-91.2
2476	3.53	-89.6
2477	1.90	-85.1
2478	3.08	-85.6
2479	2.24	-88.4
2480	17.70	-78.0

二重鎖番号	IC50 (nM)	GPAM ノックダウン(%)
2481	0.76	-90.3
2482	3.70	-88.0
2483	1.68	-79.3
2484	4.35	-86.1
2485	23.00	-72.7
2486	5.35	-65.5
2487	7.05	-71.2
2488	4.50	-84.0
2489	5.13	-85.1
2490	1.47	-88.8
2491	2.23	-87.0
2492	4.94	-82.4
2493	4.66	-86.1
2494	4.13	-90.9
2495	2.80	-73.4
2496	14.00	-82.0
2497		-66.8
2498	22.60	-73.6
2499	6.17	-79.8
2500	3.62	-93.4
2501	3.28	-92.2
2502	1.54	-87.9
2503	3.00	-85.9
2504	0.81	-75.8
2505	1.15	-87.9
2506	0.56	-89.7
2507	0.97	-81.3
2508	1.33	-87.4
2509	0.70	-85.1
2510	5.94	-92.8
2511	5.52	-82.4
2512	5.34	-82.1
2513	6.76	-92.6
2514		-73.8
2515		-28.8
2516	3.24	-92.8
2517	3.18	-87.3
2518	9.68	-72.9
2519	1.36	-79.9
2520	1.24	-82.5

10

20

30

40

【 0 2 1 4 】

【表 3 - 8】

二重鎖番号	IC50 (nM)	GPAM ノックダウン(%)
2521	1.39	-85.4
2522	2.50	-83.3
2523	3.37	-82.2

二重鎖番号	IC50 (nM)	GPAM ノックダウン(%)
2524	4.14	-72.9
2525	3.34	-84.6

50

【0215】

実施例3：ヒトPNPLA3配列を含むAAVベースのマウスモデルにおける選択されたPNPLA3 siRNA分子の有効性スクリーニング

リン酸緩衝生理食塩水（Thermo Fisher Scientific, 14190-136）に希釈したアデノ随伴アデノウイルス（AAV；血清型AAVDJ8；エンドトキシン非含有、Amgenによって内部調製）を、1匹当たり 1×10^{12} のウイルス粒子で、C57BL/6N CrI雄又は雌マウス（Charles River Laboratories Inc.）の尾静脈に投与して、肝臓におけるヒトGPAM配列の発現を駆動した。インビボスクリーニングのために、GPAM^{Δ43V}XM^{Δ005269998}の1転写物から5つのAAVコンストラクト；1つは、GPAM^{Δ43V}の全長コード配列を含むもの、並びに5'非翻訳領域、コード領域及び3'非翻訳領域のストレッチを含む4つの増強された緑色蛍光タンパク質（eGFP）レポーターコンストラクト（ヌクレオチド（nt）1~1700、nt 1600~3300、nt 3200~4900及びnt 4800~6527（AAV-A、AAV-B、AAV-C、及びAAV-D）を設計した。eGFP含有コンストラクトはまた、AAV及び研究にわたるsiRNA媒介ノックダウン有効性を比較するためのベンチマークsiRNA標的配列を含有した。

10

【0216】

表4に示すGalNAc結合siRNAをGPAM^{Δ43V}、AAV-A、AAV-B、AAV-C、又はAAV-Dに対して試験した。AAV注射の2週間後、マウス（一般に10~12週齢及びn=3~4匹/群）を、リン酸緩衝生理食塩水（Thermo Fisher Scientific, 14190-136）で希釈した動物1キログラム当たり0.5、1.0、又は3.0ミリグラムで、皮下注射によって単回用量のsiRNAで処置した。siRNA注射の28日後、動物を安楽死させ、動物から肝臓を採取し、液体窒素中で急速凍結した。製造業者の指示に従って、QIACube HT装置（Qiagen, 9001793）及びRNeasy 96 QIACube HTキット（Qiagen, 74171）を使用して、精製RNAについて肝臓の一部を処理した。試料は、QIAxpertシステム（Qiagen, 9002340）を使用して分析された。RNAは、RQ1 RNase-フリーDNase（Promega, M6101）で処理され、TAQMAN（商標）RNA-to-CT（商標）1-ステップキット（Applied Biosystems, 4392653）を使用してリアルタイムqPCRのために調製された。リアルタイムqPCRは、QuantStudioリアルタイムPCR装置上で実施された。結果は、ヒトGPAM（Invitrogen, Hs00326039）、GFP2（IDTカスタムアッセイ：フォワードプライマー：TCATCTGCACCACTGGAAAG（センス、配列番号2801）、リバープライマー：CTGCTTCAATATGGTCTGGGTATC（アンチセンス、配列番号2802）、プローブ：5'-6FAM CCAACACTGGTCACTACCCCTCACCTA-MRA-3'（センス；配列番号2803）及び／又はウシ成長ホルモンのポリアデニル化（BgHpA、これは各AAVコンストラクトに含まれる。IDTカスタムアッセイ：フォワード：5'-GCCAGCCATCTGTTGT-3'（配列番号2804）、リバー：5'-GGA GTGGCACCTTCCA-3'（配列番号2805）、プローブ：5'-6FAM-TCCCCCGTGCCCTTCCCTTGACC TAMRA-3'（配列番号2806）の遺伝子発現に基づいており、マウスTATA結合タンパク質（Tbp）（IDT, Hex Mm.PT.39a.22214839）に対して正規化され、マウスTbpに対して正規化されたヒトGPAM、GFP、及び／又はBgHpA mRNA発現の相対的なノックダウンパーセントとして、ビヒクル処置対照動物と比較して示される。陰性結果はノックダウンを示す。（nd=未決定）。

20

30

40

【0217】

【表 4 - 1】

表4. 28日目のGPAMノックダウンアッセイ

二重鎖番号	投与量 (mg/kg)	GFP2平均KD	BghpA 平均KD	GPAM平均KD
D-2548	1	-32.8	-38.3	
D-2549	1	-61.0	-56.5	
D-2546	1	-54.8	-56.7	
D-2550	1	-47.0	-43.1	
D-2551	1	-73.3	-67.0	
D-2545	1	-55.4	-50.4	
D-2544	1	-65.2	-57.2	
D-2614	1	-61.6	-50.7	
D-2615	1	-58.3	-53.9	
D-2529	1	53.6	42.2	
D-2591	1	31.3	38.5	
D-2592	1	-54.2	-51.5	
D-2531	1	-66.3	-62.2	
D-2567	1	-53.6	-48.8	
D-2568	1	-3.4	8.1	
D-2535	1	-52.9	-51.7	
D-2569	1	32.3	27.9	

【 0 2 1 8 】

10

20

30

40

50

【表 4－2】

D-2570	1	0.2	-2.5	
D-2571	1	-30.5	-23.3	
D-2572	1	-67.6	-64.2	
D-2584	1	-41.0	-33.9	
D-2573	1	-0.4	10.7	
D-2574	1	nd	-45.3	
D-2585	1	6.2	1.4	
D-2575	1	-72.7	-72.7	
D-2576	1	-36.9	-40.4	
D-2577	1	-65.7	-65.8	
D-2578	1	-49.4	-45.8	
D-2589	1	-71.4	-69.7	
D-2612	1	2.0	11.8	
D-2590	1	-20.2	-14.8	
D-2560	1	-2.6	-6.0	
D-2561	1	-12.3	1.6	
D-2563	1	-14.1	-10.2	
D-2543	1	-39.9	-31.8	
D-2601	1	-20.5	-30.3	
D-2602	1	-26.4	-11.4	
D-2603	1	-26.9	-19.9	
D-2604	1	-27.5	-25.0	
D-2605	1	-31.3	-8.0	
D-2606	1	18.3	46.1	
D-2582	1	-4.2	0.1	
D-2583	1	-13.9	-4.0	
D-2587	1	-43.0	-34.3	
D-2588	1	38.7	48.4	
D-2610	1	20.3	23.2	
D-2611	1	15.1	20.7	
D-2566	1	-56.9	-57.4	
D-2540	1	-40.4	-39.8	
D-2527	1	-58.1	-55.5	
D-2579	1	-54.3	-59.9	
D-2580	1	-37.3	-49.0	
D-2581	1	-54.5	-55.5	
D-2529	1	-46.5	-48.4	
D-2591	1	-62.7	-60.8	
D-2544	1			0.6
D-2547	1			-24.2

【 0 2 1 9 】

10

20

30

40

50

【表 4－3】

D-2552	1			-16.1
D-2613	1			-39.5
D-2614	1			-36.7
D-2615	1			-49.1
D-2616	1			-39.0
D-2617	1			-44.8
D-2530	1			-29.3
D-2593	1			-22.4
D-2594	1			-2.2
D-2528	1			-30.0
D-2595	1			-42.1
D-2596	1			-38.6
D-2597	1			-12.1
D-2562	1			-0.3
D-2598	1			-43.2
D-2599	1			3.7
D-2537	1			-16.2
D-2536	1			-8.8
D-2600	1			-21.6
D-2607	1			-62.3
D-2564	1			-48.6
D-2608	1			-20.9
D-2541	1			-41.7
D-2609	1			-36.4
D-2538	1			-60.5
D-2553	1			-56.5
D-2554	1			-52.8
D-2534	1			-61.8
D-2555	1			-37.6
D-2542	1			-47.9
D-2556	1			-42.9
D-2586	1			-36.4
D-2558	1			-42.3
D-2559	1			-20.0
D-2532	1			-22.9
D-2565	1			-24.8
D-2600	1			-21.6
D-2598	1			-43.2
D-2607	0.5	-6.6	-2.9	
D-2607	1	-36.7	-36.5	

【 0 2 2 0 】

10

20

30

40

50

【表 4－4】

D-2607	3	-30.7	-46.7	
D-2549	0.5	-38.5	-49.5	
D-2549	1	-38.8	-51.9	
D-2549	3	-34.6	-49.6	
D-2551	0.5	-52.8	-56.4	
D-2551	1	-40.1	-48.3	
D-2551	3	-49.9	-64.9	
D-2607	0.5		4.5	-1.2
D-2607	1		-37.9	-35.6
D-2607	3		-45.6	-46.7
D-2544	0.5		-35.7	-32.5
D-2544	1		5.9	7.6
D-2544	3		-29.1	-30.5
D-2554	0.5		-22.7	-22.2
D-2554	1		-40.3	-40.3
D-2554	3		-18.7	-16.3
D-2534	0.5		-41.4	-41.4
D-2534	1		13.8	2.1
D-2534	3		-63.3	-56.7
D-2538	0.5		-40.2	-27.0
D-2538	1		-31.2	-31.3
D-2538	3		-53.7	-54.1
D-2551	0.5	-33.0	-42.5	
D-2618	0.5	-5.0	-13.1	
D-2619	0.5	-47.4	-49.4	
D-2620	0.5	-47.5	-49.7	
D-2621	0.5	4.3	-8.3	
D-2549	0.5	-40.5	-43.1	
D-2638	0.5	-37.9	-32.4	
D-2639	0.5	-29.0	-35.2	
D-2640	0.5	-50.9	-56.0	
D-2641	0.5	-25.8	-28.7	
D-2531	0.5	-27.6	-26.4	
D-2630	0.5	-10.1	-8.1	
D-2631	0.5	-15.1	-14.2	
D-2632	0.5	-23.2	-26.2	
D-2633	0.5	-51.8	-51.7	
D-2575	0.5	-42.4	-48.8	
D-2622	0.5	-59.3	-59.7	
D-2623	0.5	-42.9	-44.7	

【 0 2 2 1 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 5】

D-2624	0.5	-48.2	-52.1	
D-2625	0.5	-15.8	-24.2	
D-2572	0.5	-38.5	-36.5	
D-2626	0.5	-43.7	-41.4	
D-2627	0.5	-33.8	-33.3	
D-2628	0.5	-9.1	-12.2	
D-2629	0.5	-2.2	-2.5	
D-2577	0.5	-5.4	-12.6	
D-2634	0.5	2.1	13.2	
D-2635	0.5	2.8	5.2	
D-2636	0.5	-3.4	-13.0	
D-2637	0.5	1.3	0.1	
D-2557	0.5		-36.2	-40.0
D-2530	0.5		-27.0	-26.6
D-2533	0.5		-15.3	-11.4
D-2566	0.5		19.0	17.8
D-2540	0.5		-48.6	-48.5
D-2527	0.5		-30.0	-30.9
D-2579	0.5		-60.2	-62.0
D-2580	0.5		-14.9	-8.9
D-2581	0.5		-31.0	-35.7
D-2544	0.5		0.2	2.8
D-2645	0.5		-28.0	-32.4
D-2650	0.5		-21.8	-28.6
D-2655	0.5		-34.1	-36.8
D-2660	0.5		-16.8	-15.3
D-2607	0.5		-47.6	-43.5
D-2644	0.5		-55.7	-51.2
D-2649	0.5		-40.8	-45.0
D-2654	0.5		0.8	-6.1
D-2659	0.5		-28.8	-35.2
D-2538	0.5		-21.4	-16.7
D-2646	0.5		2.1	0.6
D-2651	0.5		-3.5	-6.7
D-2656	0.5		-37.7	-40.9
D-2661	0.5		-53.3	-53.3
D-2554	0.5		-16.9	-19.1
D-2642	0.5		-33.9	-28.4
D-2647	0.5		-32.8	-34.8
D-2652	0.5		-24.0	-22.6

【 0 2 2 2 】

10

20

30

40

50

【表 4－6】

D-2657	0.5		-42.9	-46.1
D-2534	0.5		-55.0	-50.6
D-2643	0.5		-51.6	-57.0
D-2648	0.5		-49.1	-46.5
D-2653	0.5		-41.2	-44.9
D-2658	0.5		-24.0	-21.6
D-2579	0.5			-21.2
D-2579	1			24.1
D-2662	0.5			-13.8
D-2663	0.5			-0.1
D-2664	0.5			-10.9
D-2665	0.5			8.6
D-2666	0.5			-8.0
D-2667	0.5			130.6
D-2668	0.5			47.5
D-2669	0.5			23.0
D-2670	0.5			-3.8
D-2534	0.5			-28.1
D-2534	1			-61.9
D-2671	0.5			10.8
D-2672	0.5			-42.1
D-2673	0.5			-2.6
D-2674	0.5			14.6
D-2675	0.5			1.9
D-2643	0.5			-13.4
D-2643	1			-20.0
D-2676	0.5			-24.0
D-2677	0.5			-47.1
D-2678	0.5			-37.8
D-2679	0.5			45.9
D-2680	0.5			2.8
D-2661	0.5			35.7
D-2661	1			31.7
D-2681	0.5			65.2
D-2682	0.5			-2.2
D-2683	0.5			-5.2
D-2684	0.5			4.1
D-2685	0.5			-45.6
D-2619	0.5	-28.7	-34.4	
D-2619	1	-18.9	-29.0	

【 0 2 2 3 】

10

20

30

40

50

【表 4－7】

D-2688	0.5	-32.7	-40.7	
D-2692	0.5	13.0	2.5	
D-2696	0.5	13.8	8.1	
D-2700	0.5	-34.8	-38.8	
D-2640	0.5	-44.6	-47.6	
D-2640	1	-59.7	-69.0	
D-2686	0.5	-19.1	-22.4	
D-2690	0.5	-11.6	-15.3	
D-2694	0.5	-37.1	-45.5	
D-2698	0.5	nd	nd	
D-2661	1	-3.4	-12.3	
D-2622	0.5	-43.4	-37.4	
D-2622	1	-64.7	-69.0	
D-2689	0.5	-53.8	-54.3	
D-2693	0.5	-53.2	-56.4	
D-2697	0.5	-64.9	-64.7	
D-2624	0.5	-62.8	-66.8	
D-2633	0.5	-57.2	-62.4	
D-2633	1	-69.8	-77.1	
D-2687	0.5	-53.9	-61.7	
D-2691	0.5	-16.9	-21.8	
D-2695	0.5	-33.6	-37.5	
D-2699	0.5	-44.2	-47.6	
D-2640	0.5	-58.9	-61.4	
D-2640	1	-65.9	-74.7	
D-2640	3	-86.0	-89.4	
D-2551	0.5	-42.3	-45.5	
D-2551	1	-60.6	-66.7	
D-2551	3	-79.9	-85.1	
D-2531	0.5	-29.0	-41.9	
D-2531	1	-52.1	-64.0	
D-2531	3	-76.8	-89.8	
D-2633	0.5	-5.9	-50.6	
D-2633	1	-55.5	-71.3	
D-2633	3	-82.9	-90.0	
D-2575	0.5	-17.6	-45.3	
D-2575	1	-55.5	-69.9	
D-2575	3	-79.8	-89.7	
D-2622	0.5	-17.7	-41.8	
D-2622	1	-39.3	-54.9	

【 0 2 2 4 】
【表 4－8】

D-2622	3	-73.8	-84.0	
D-2589	0.5	-33.1	-59.3	
D-2589	1	-65.0	-77.3	
D-2589	3	-81.4	-91.9	

【0225】

本明細書において言及される全ての刊行物、特許及び特許出願は、各々の個々の刊行物、特許又は特許出願が具体的且つ個別に参照により組み込まれることが示された場合と同程度に参照により本明細書に組み込まれる。しかしながら、本明細書における参考文献の引用は、そのような参考文献が本発明の先行技術であることを認めるものと解釈されるべきではない。参照により組み込まれる参考文献において提供される定義又は用語のいずれかが、本明細書で提供される用語及び考察と異なる限りにおいて、本用語及び本定義が優先される。

【0226】

前述の本明細書は、当業者が本発明を実施するのに十分なものであると考えられる。前述の説明及び実施例は、本発明のある特定の好ましい実施形態を詳細に説明し、本発明者が企図する最良の形態を記載するものである。しかしながら、前述の内容がいかに詳細に記載されようとも、本発明を多くの方法で実施してもよく、添付の特許請求の範囲及びその均等物に従って本発明が解釈されるべきであることが理解されるであろう。

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/047491

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV.	C12N15/113 C12N9/10 A61K31/713 A61K31/7115 A61K31/712	
	A61K31/7125 A61P1/16	
ADD.		
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) C12N A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KIM CHAI-WAN ET AL: "Acetyl CoA Carboxylase Inhibition Reduces Hepatic Steatosis but Elevates Plasma Triglycerides in Mice and Humans: A Bedside to Bench Investigation", CELL METABOLISM, CELL PRESS, UNITED STATES, vol. 26, no. 2, 1 August 2017 (2017-08-01), page 394, XP085151036, ISSN: 1550-4131, DOI: 10.1016/J.CMET.2017.07.009 page e2 page e3, paragraph 4 figure 7 page 402, left-hand column, paragraph 1 - page 403, right-hand column, paragraph 3 ----- -/-	1-42
☒ 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 "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 16 February 2023		Date of mailing of the international search report 18/04/2023
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Solyga-Zurek, A

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/047491

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.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an 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.:
1-42 (partially)

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 Application No. PCT/US2022 /047491

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-42 (partially)

an RNAi construct comprising a sense strand and an antisense strand, wherein the antisense strand comprises a region that is complementary to a glycerol-3-phosphate acyltransferase, mitochondrial (GPAM) mRNA sequence, of SEQ ID NO: 1, as listed in Table 1, and wherein the RNAi construct inhibits the expression of GPAM

2-700. claims: 1-42 (partially)

an RNAi construct comprising a sense strand and an antisense strand, wherein the antisense strand comprises a region that is complementary to a glycerol-3-phosphate acyltransferase, mitochondrial (GPAM) mRNA sequence, having a sequence of SEQ ID NO: 3 - 2721 of Table 1, respectively, and wherein the RNAi construct inhibits the expression of GPAM

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2022/047491

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

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

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/047491

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2016/271137 A1 (KOYUNCU EMRE [US] ET AL) 22 September 2016 (2016-09-22) table 2 sequences 91-96 -----	1-42
A	XU ET AL: "Hepatic knockdown of mitochondrial GPAT1 in ob/ob mice improves metabolic profile", BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, ELSEVIER, AMSTERDAM NL, vol. 349, no. 1, 13 October 2006 (2006-10-13), pages 439-448, XP005669579, ISSN: 0006-291X, DOI: 10.1016/J.BBRC.2006.08.071 page 440, right-hand column, paragraph 2 figures 1, 3-5 table 1 page 439, right-hand column, paragraph 2 - page 440, left-hand column, paragraph 2 -----	1-42
A	US 2012/004276 A1 (LINDHOLM MARIE [SE] ET AL) 5 January 2012 (2012-01-05) table 1 claim 34 paragraph [0012] - paragraph [0014] -----	1-42

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2022/047491

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2016271137 A1	22-09-2016	EP 2536411 A2	26-12-2012
		US 2013190381 A1	25-07-2013
		US 2016271137 A1	22-09-2016
		WO 2011103516 A2	25-08-2011
US 2012004276 A1	05-01-2012	AU 2009265836 A1	07-01-2010
		BR PI0915837 A2	03-11-2015
		CA 2729897 A1	07-01-2010
		CN 102076854 A	25-05-2011
		EA 201170131 A1	30-08-2011
		EP 2310504 A1	20-04-2011
		JP 2011526482 A	13-10-2011
		KR 20110031368 A	25-03-2011
		US 2012004276 A1	05-01-2012
		WO 201000656 A1	07-01-2010

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K 48/00

テーマコード (参考)

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,
CV,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,I
T,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,
MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,
SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 ルリフソン, イングリッド

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 3 2 0-1 7 9 9, サウザンド オークス, ワン アムジ
ェン センター ドライブ, ロー デパートメント-パテント オペレーションズ, メール ストッ
プ 2 8-5-エー, アムジェン インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 ミード, ブライアン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 3 2 0-1 7 9 9, サウザンド オークス, ワン アムジ
ェン センター ドライブ, ロー デパートメント-パテント オペレーションズ, メール ストッ
プ 2 8-5-エー, アムジェン インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 ロング, ジェイソン シー.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 3 2 0-1 7 9 9, サウザンド オークス, ワン アムジ
ェン センター ドライブ, ロー デパートメント-パテント オペレーションズ, メール ストッ
プ 2 8-5-エー, アムジェン インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 マリー, ジャスティン ケー.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 3 2 0-1 7 9 9, サウザンド オークス, ワン アムジ
ェン センター ドライブ, ロー デパートメント-パテント オペレーションズ, メール ストッ
プ 2 8-5-エー, アムジェン インコーポレイテッド 気付

F ターム (参考) 4C084 AA13 NA14 ZA75 ZB11

4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZA75 ZB11