

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6629716号

(P6629716)

(45) 発行日 令和2年1月15日(2020.1.15)

(24) 登録日 令和1年12月13日(2019.12.13)

(51) Int.Cl.

F I

C 1 2 N 15/113 (2010.01)

C 1 2 N 15/113 Z N A Z

A 6 1 K 31/712 (2006.01)

A 6 1 K 31/712

A 6 1 K 31/7115 (2006.01)

A 6 1 K 31/7115

A 6 1 K 31/7125 (2006.01)

A 6 1 K 31/7125

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00

請求項の数 14 (全 112 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-503214 (P2016-503214)  
 (86) (22) 出願日 平成26年3月14日 (2014.3.14)  
 (65) 公表番号 特表2016-513976 (P2016-513976A)  
 (43) 公表日 平成28年5月19日 (2016.5.19)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2014/029752  
 (87) 国際公開番号 W02014/153236  
 (87) 国際公開日 平成26年9月25日 (2014.9.25)  
 審査請求日 平成29年3月14日 (2017.3.14)  
 (31) 優先権主張番号 61/785,177  
 (32) 優先日 平成25年3月14日 (2013.3.14)  
 (33) 優先権主張国・地域又は機関  
 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 61/943,931  
 (32) 優先日 平成26年2月24日 (2014.2.24)  
 (33) 優先権主張国・地域又は機関  
 米国 (US)

(73) 特許権者 595104323  
 アイオーニス ファーマシューティカルズ  
 , インコーポレーテッド  
 Ionis Pharmaceutica  
 ls, Inc.  
 アメリカ合衆国カリフォルニア州9201  
 O, カールズバッド, ガゼル コート 2  
 855  
 (74) 代理人 100140109  
 弁理士 小野 新次郎  
 (74) 代理人 100118902  
 弁理士 山本 修  
 (74) 代理人 100106208  
 弁理士 宮前 徹

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 タウ発現を調節するための組成物および方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

16 ~ 30 個の連結したヌクレオシドからなり、配列番号 1 の核酸塩基 1 2 1 8 7 3 から 1 2 1 8 9 8 の等長部分に相補的な少なくとも 16 個の連続した核酸塩基を含む相補領域を含む核酸塩基配列を含む修飾オリゴヌクレオチドを含む化合物であって、該修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドが 2' - 置換糖部分を含み、該修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が配列番号 1 に 100% 相補的である、上記化合物。

【請求項 2】

修飾オリゴヌクレオチドが、16 ~ 22 個の連結したヌクレオシドからなる、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも 1 つの核酸塩基が修飾核酸塩基である、請求項 1 又は 2 に記載の化合物。

【請求項 4】

各シトシンが 5 - メチルシトシンである、請求項 3 に記載の化合物。

【請求項 5】

修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシド間結合を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 6】

修飾ヌクレオシド間結合がホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、請求項 5 に

記載の化合物。

【請求項 7】

少なくとも 1 つのヌクレオシド間結合がホスホロチオエート結合であり、少なくとも 1 つのヌクレオシド間結合がホスホジエステル結合である、請求項 6 に記載の化合物。

【請求項 8】

各ヌクレオシド間結合が修飾ヌクレオシド間結合である、請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 9】

各修飾ヌクレオシド間結合がホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、請求項 8 に記載の化合物。

【請求項 10】

2' - 置換糖部分が、2' - OMe、2' - F、および 2' - MOE から選択される、請求項 1 ～ 9 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 11】

少なくとも 1 つの共役体を含む、請求項 1 ～ 10 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 12】

請求項 1 ～ 11 のいずれか 1 項に記載の化合物と薬学的に許容される担体または希釈剤とを含む、医薬組成物。

【請求項 13】

薬学的に許容される希釈剤がリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) であり、及び / 又は、修飾オリゴヌクレオチドがナトリウム塩である、請求項 12 に記載の医薬組成物。

【請求項 14】

タウ関連障害に関連する 1 つ以上の症状を低減若しくは改善するための請求項 1 ～ 11 のいずれか 1 項に記載の化合物又は請求項 12 若しくは 13 に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

配列表

本出願は、電子形式の配列表とともに出願されている。配列表は、約 208 KB のサイズの、2014/3/14 に作製された B I O L 0 2 2 0 W O S E Q \_ \_ S T 2 5 . t x t と題されたファイルとして提供される。配列表の電子形式中の情報は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

背景

【0002】

アンチセンス化合物生物化学、分子生物学、および医学の分野に関する組成物および方法が本明細書に開示される。本明細書に記載される実施形態は、細胞および / もしくは動物中のタウの発現を阻害するか、またはタウのスプライシングを調節することによって、タウオパシー、アルツハイマー病、前頭側頭型認知症 (FTD)、FTDP - 17、進行性核上麻痺 (PSP)、慢性外傷性脳障害 (CTE)、大脳皮質基底核神経節変性症 (CBD)、癲癇、および Dravet 症候群を含む神経変性疾患を治療する、予防する、または改善するための化合物、組成物、および方法に関する。

【背景技術】

【0003】

タウの主な機能は、微小管と結合し、安定化させることであり、それは、有糸分裂、細胞質分裂、および小胞輸送に関与する細胞骨格の重要な構造的構成要素である。タウは、複数の組織に見られるが、神経軸索内に特に豊富である。ヒトにおいては、エキソン 2、3、および 10 の選択的スプライシングによって生成される 6 個のタウのアイソフォームが存在する。タンパク質の N 末端におけるエキソン 2 および 3 のスプライシングは、0、1、または 2 個の 29 アミノ酸酸性ドメインの包含をもたらし、それぞれ、0N、1N、または 2N タウと名付けられる。これらのドメインのタウ機能への影響は、細胞膜との相

10

20

30

40

50

相互作用に関与し得るが、完全には明らかになっていない。C末端におけるエキソン10の包含は、エキソン10によってコードされた微小管結合ドメインの包含をもたらす。タウの他の部分に3個の微小管結合ドメインが存在するので、このタウアイソフォーム（エキソン10を含む）は、4Rタウと名付けられ、ここで「R」は、微小管結合ドメインの反復の数を指す。エキソン10を有しないタウは、3Rタウと名付けられる。より多くの微小管結合ドメイン（3Rよりも4R）は、微小管への結合を増加させるため、4Rタウは、微小管結合および集合を著しく増加させると思われる。3R/4Rタウの比率は、3Rタウのみを発現する胎生組織およびおよそ同じ水準の3R/4Rタウを発現する成人ヒト組織によって、発達的に制御される。3R/4Rタウの正常な比率からの逸脱は、神経変性FTDタウオパシーの特性である。成体動物の後期において3R/4Rタウ比の変化が、どのようにタウ発症機序に影響するかは知られていない。

10

#### 【0004】

セリンスレオニン指向性リン酸化は、タウの微小管結合能を制御する。過剰リン酸化は、微小管からタウの脱離を促進する。タウの他の翻訳後修飾が説明されているが、これらの有意性は明らかではない。タウのリン酸化もまた、胎生組織における高度なリン酸化および成体におけるはるかに低度のリン酸化によって、発達的に制御される。神経変性障害の1つの特性は、異常に増加したタウリン酸化である。

#### 【0005】

微小管ネットワークは、細胞の形態の維持および輸送機構の作動に必要な構造的完全性を含む、細胞内の多くの重要なプロセスに関与する。タウの微小管への結合が微小管を安定化させるため、タウは、これらのプロセスのうちのいくつかの主要な媒介物となる可能性があり、神経変性疾患における正常なタウの破壊は、これらの主要な細胞プロセスのうちのいくつかを破壊し得る。

20

#### 【0006】

神経変性症候群においてタウが重要であり得る早期指標のうちの1つは、タウがアルツハイマー病における神経原線維封入体の主要な構成要素であることの認識であった。実際に、神経原線維封入体は、過剰リン酸化したタウタンパク質の凝集体である。プラークを含有するアミロイド と併せて、神経原線維封入体は、アルツハイマー病の特徴であり、認知機能障害と有意に相関する。ADにおいてタウ蓄積の95%が神経突起で見られ、神経炎性ジストロフィーと名付けられる。この微小管関連タンパク質が微小管から離脱し、タンパク質の蓄積を形成するプロセス（複数可）およびこれがどのように神経毒性に関係するかは、十分に理解されていない。

30

#### 【0007】

神経タウ封入は、アルツハイマー病だけではなく、前頭側頭型認知症（FTD）、PSP、およびCBDの一部の病理学的特性である。タウと神経変性との間の関連は、タウ遺伝子における突然変異がFTDの一部を引き起こすという発見により、強固となった。これらの遺伝子データは、タウの3R:4R比の重要性も強調した。FTDを引き起こすタウ突然変異の多くは、エキソン10の優先的包含、および、それによる4Rタウの増加をもたらすタウスプライシングの変化をもたらす。全体的なタウレベルは、正常である。タウアイソフォームの変化もしくはアミノ酸の変化またはその両方が神経変性を生じるかどうかは、未知のままである。最近のデータは、PSPが、4R:3Rタウ比の増加にも関連付けられ得、このため、同様のスプライシング戦略に従順であり得ることを示唆する。

40

#### 【0008】

タウ比の神経変性における影響の理解を補助するために、スプライシングタウ突然変異（N279K）のうちの1つに基づくマウスモデルを、タウプロモーターおよびエキソン10の隣接するイントロン配列を含むミニ遺伝子を使用して生成した。ヒトにおいてみられるように、これらのマウスは、WTタウを発現するトランスジェニックと比較して4Rタウのレベルの上昇を示し、行動異常および運動異常ならびに脳および脊髄中の凝集したタウの蓄積を発症する。

#### 【0009】

50

タンパク質「タウ」は、アルツハイマー病、前頭側頭型認知症、進行性核上麻痺、大脳皮質基底核神経節変性症、拳闘家認知症、染色体に関連するパーキンソン症、リティコ・ボディグ (Lytico - Bodig) 病、神経原線維変化優位性 (tangle - predominant) 認知症、神経節膠腫、神経節細胞腫、髄膜血管腫症、亜急性硬化性全脳炎、鉛脳障害、結節性硬化症、ハラーフォルデン・スパッツ病、ピック病、嗜銀顆粒病、大脳皮質基底核変性症、または前頭側頭葉変性症、およびその他を含む、脳の複数の疾患と関連付けられている。AD等のタウ関連障害は、高齢者における認知症の最も一般的な原因である。ADは、世界中で推定1500万人であり、85歳を超える人口の40%に及ぶ。ADは、タウ神経原線維封入 (NFT) およびアミロイド - (A) プラークといった2つの病理学的特質を特徴とする。

10

#### 【0010】

発作性障害では、脳の電気活動が定期的に妨害され、ある程度の一時的な脳機能障害をもたらす。正常な脳機能は、電気インパルスの整然とした、秩序だった、協調した放電を必要とする。電気インパルスは、脳が、脊髄、神経、および筋肉と、ならびに脳自体内で通信できるようにする。発作は、脳の電気活動が破壊されたときに生じ得る。癲癇性および非癲癇性という、発作の2つの基本的な種類がある。癲癇性発作は、明らかな原因または誘因を有さず、繰り返し生じる。非癲癇性発作は、障害または脳を刺激する別の病状によって誘起または誘発される。ある特定の精神障害は、心因性非癲癇性発作と称される発作症状を引き起こし得る。

#### 【0011】

20

アルツハイマー病 (AD) は、晩期発症型発作の臨床的危険因子として既知である。複数のADマウスモデルは、この増加した発作感受性を再現する。ここ5年以内で、これらのADモデルの多くは、マウスタウノックアウト (タウ - / -) の設定で研究された。増加した発作感受性は、これらのアミロイドを蓄積したタウノックアウト系統において改善された。さらに、タウ - / - 単体は、興味深いことに、化学的に誘発された発作に対して保護的であるように見えた。

#### 【0012】

抗痙攣薬は、発作の一般的な治療計画を表す。しかしながら、抗痙攣薬は、発作性障害を有するかなりの割合の人々に効果がなく、これらの個人にとっては、外科手術が唯一の選択肢である。発作性障害および神経変性疾患に対する利用可能な治療を欠く状況の中で、本実施形態のある特定の方法は、動物におけるタウの発現を阻害するか、またはタウのスプライシングを調節することによって発作性障害および神経変性疾患を治療する、予防する、または改善するための方法を提供する。

30

#### 【発明の概要】

#### 【0013】

細胞、組織、および動物におけるタウmRNAのスプライシングを調節するための方法が、本明細書に提供される。細胞、組織、および動物におけるタウmRNAの発現生成物を調節するための方法も本明細書に提供される。

#### 【0014】

40

ある特定の実施形態において、調節は、細胞または組織において生じ得る。ある特定の実施形態において、細胞または組織は、動物に存在する。ある特定の実施形態において、動物は、ヒトである。ある特定の実施形態において、タウmRNAレベルが低下する。ある特定の実施形態において、タウタンパク質レベルが低下する。ある特定の実施形態において、タウmRNAのスプライシングが調節される。ある特定の実施形態において、タウmRNAの発現生成物が調節される。ある特定の実施形態において、タウエキソン10の排除が促進される。ある特定の実施形態において、タウRNAまたはタンパク質の4Rアイソフォームの発現が低下する。ある特定の実施形態において、タウRNAまたはタンパク質の3Rアイソフォームの発現が増加する。ある特定の実施形態において、タウRNAまたはタンパク質の4Rアイソフォームの発現が低下し、タウRNAまたはタンパク質の

50

3 R アイソフォームの発現が増加する。ある特定の実施形態において、過剰リン酸化したタウが低下する。そのような低下および調節は、時間依存的様式で、または用量依存的様式で生じ得る。

【0015】

いくつかの実施形態は、タウ関連障害の1つ以上の症状を低下させるか、または減少させる方法を対象とする。ある特定の実施形態において、症状は、発作である。ある特定の実施形態において、タウ関連障害または神経変性障害は、アルツハイマー病、前頭側頭型認知症、進行性核上麻痺、大脳皮質基底核神経節変性症、拳闘家認知症、染色体に関連するパーキンソン症、リティコ・ボディグ病、神経原線維変化優位性認知症、神経節膠腫、神経節細胞腫、髄膜血管腫症、亜急性硬化性全脳炎、鉛脳障害、結節性硬化症、ハラフ  
10  
フォルデン・スパッツ病、ピック病、嗜銀顆粒病、大脳皮質基底核変性症、または前頭側頭葉変性症である。ある特定の実施形態は、高い4 R : 3 R タウアイソフォーム比を有する対象における発作を減少させる方法を対象とする。ある特定の実施形態において、方法は、アンチセンス薬剤を対象に投与することを含み、その薬剤は、対象の中樞神経系のタウの発現を減少させるか、または4 R : 3 R タウ比を減少させる。

【0016】

また、タウに関連する疾患、障害、および病状を予防する、治療する、および改善するために有用な方法も提供される。ある特定の実施形態において、そのようなタウに関連する疾患、障害、および病状は、神経変性疾患である。ある特定の実施形態において、神経変性疾患は、アルツハイマー病、前頭側頭型認知症 ( F T D )、F T D P - 17、進行性  
20  
核上麻痺、慢性外傷性脳障害、癲癇、またはD r a v e t 症候群のうちのいずれかである。ある特定の実施形態において、神経変性疾患の1つ以上の症状が、改善される、予防される、または遅延される ( 緩慢な進行 )。ある特定の実施形態において、症状は、記憶喪失、不安、または運動機能の喪失である。ある特定の実施形態において、神経変性機能が改善される。ある特定の実施形態において、神経原線維封入が低下する。

【0017】

そのような疾患、障害、および病状は、1つ以上の共通の危険因子、原因、または結果を有し得る。神経変性疾患の発達のある特定の危険因子および原因には、遺伝的素因および高齢が挙げられる。

【0018】

ある特定の実施形態において、治療の方法は、タウアンチセンス化合物を、それを必要とする個体に投与することを含む。アンチセンス化合物は、タウの発現を阻害するか、またはタウのスプライシングを調節することができる。ある特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、一本鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態において、一本鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドは、タウ核酸に相補的である。

【0019】

ある特定の実施形態において、本発明は、オリゴヌクレオチドを含む化合物を提供する。ある特定の実施形態において、そのようなオリゴヌクレオチドは、タウ転写物に相補的である。ある特定のそのような実施形態において、オリゴヌクレオチドは、エキソン10を含むタウ転写物の標的領域に相補的である。ある特定のそのような実施形態において、オリゴヌクレオチドは、エキソン10に隣接するイントロンを含むタウ転写物の標的領域に相補的である。ある特定のそのような実施形態において、オリゴヌクレオチドは、エキソン10に隣接するおよびエキソン10の下流のイントロンを含むタウ転写物の標的領域に相補的である。ある特定のそのような実施形態において、オリゴヌクレオチドは、エキソン10に隣接するおよびエキソン10の上流のイントロンを含むタウ転写物の標的領域に相補的である。ある特定の実施形態において、タウ転写物は、エキソン10のエキソンのスプライスサイレンサーを含む。ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、エキソン10の包含を阻害する。ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、エキソン10のスキッピングを促進する。ある特定のそのような実施形態において、3 R タウ m R N A が増加する。ある特定のそのような実施形態において、エキソン10  
40  
50

mRNAを有するタウmRNAが減少する。ある特定の実施形態において、タウタンパク質の4Rアイソフォームが減少する。ある特定の実施形態において、タウタンパク質の3Rアイソフォームが増加する。

【0020】

上述の番号付けされた実施形態のうちのいずれかが挙げられるが、これらに限定されないある特定の実施形態において、タウ転写物は、ヒトに存在する。上述の番号付けされた実施形態のうちのいずれかが挙げられるが、これらに限定されないある特定の実施形態において、タウ転写物は、マウスに存在する。

【0021】

本開示は、以下の非限定的な番号付けされた実施形態を提供する。

10

実施形態1．8～30個の連結したヌクレオシドからなり、タウ転写物の等長の標的領域に相補的である少なくとも8個の連続した核酸塩基を含む相補領域を含む核酸塩基配列を有する修飾オリゴヌクレオチドを含む、化合物。

実施形態2．該修飾オリゴヌクレオチドの該相補領域が、該標的領域に100%相補的である、実施形態1に記載の化合物。

実施形態3．該修飾オリゴヌクレオチドの該核酸塩基配列の該相補領域が、少なくとも10個の連続した核酸塩基を含む、実施形態1または2に記載の化合物。

実施形態4．該修飾オリゴヌクレオチドの該核酸塩基配列の該相補領域が、少なくとも15個の連続した核酸塩基を含む、実施形態1または2に記載の化合物。

実施形態5．該修飾オリゴヌクレオチドの該核酸塩基配列の該相補領域が、少なくとも18個の連続した核酸塩基を含む、実施形態1または2に記載の化合物。

20

実施形態6．該修飾オリゴヌクレオチドの該核酸塩基配列が、該オリゴヌクレオチドの全長にわたって測定される際、該タウ転写物の等長領域に少なくとも80%相補的である、実施形態1～5のいずれかに記載の化合物。

実施形態7．該修飾オリゴヌクレオチドの該核酸塩基配列が、該オリゴヌクレオチドの全長にわたって測定される際、該タウ転写物の等長領域に少なくとも90%相補的である、実施形態1～5のいずれかに記載の化合物。

実施形態8．該修飾オリゴヌクレオチドの該核酸塩基配列が、該オリゴヌクレオチドの全長にわたって測定される際、該タウ転写物の等長領域に100%相補的である、実施形態1～5のいずれかに記載の化合物。

30

実施形態9．該標的領域が、該タウ転写物のエキソン10内にある、実施形態1～8のいずれかに記載の化合物。

実施形態10．該標的領域が、該タウ転写物のイントロン9内にある、実施形態1～8のいずれかに記載の化合物。

実施形態11．該標的領域が、該タウ転写物のイントロン10内にある、実施形態1～8のいずれかに記載の化合物。

実施形態12．該標的領域が、イントロン9の一部およびエキソン10の一部を含む、実施形態1～8のいずれかに記載の化合物。

実施形態13．該標的領域が、エキソン10の一部およびイントロン10の一部を含む、実施形態1～8のいずれかに記載の化合物。

40

実施形態14．該標的領域が、エキソン10の一部およびエキソン10の5'末端で該イントロンの一部を含む、実施形態1～8のいずれかに記載の化合物。

実施形態15．該標的領域が、エキソン10の一部およびエキソン10の3'末端で該イントロンの一部を含む、実施形態1～8のいずれかに記載の化合物。

実施形態16．該標的領域が、配列番号1の核酸塩基121708および核酸塩基122044内にある、実施形態1～15のいずれかに記載の化合物。

実施形態17．該標的領域が、配列番号1の核酸塩基121796および核酸塩基122044内にある、実施形態1～9のいずれかに記載の化合物。

実施形態18．該標的領域が、配列番号1の核酸塩基121796および核酸塩基121885内にある、実施形態1～9のいずれかに記載の化合物。

50

実施形態 19 . 該標的領域が、配列番号 1 の核酸塩基 1 2 1 8 7 3 および核酸塩基 1 2 1 8 9 8 内にある、実施形態 1 ~ 9 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 20 . 該標的領域が、配列番号 1 の核酸塩基 1 2 1 8 6 9 および核酸塩基 1 2 1 9 4 3 内にある、実施形態 1 ~ 9 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 21 . 該標的領域が、配列番号 1 の核酸塩基 1 2 2 0 2 0 および核酸塩基 1 2 2 0 4 4 内にある、実施形態 1 ~ 9 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 22 . 該標的領域が、配列番号 1 の核酸塩基 1 2 1 8 8 1 および核酸塩基 1 2 1 8 9 8 内にある、実施形態 1 ~ 9 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 23 . 該標的領域が、配列番号 1 の核酸塩基 1 2 1 8 8 0 および核酸塩基 1 2 1 8 9 7 内にある、実施形態 1 ~ 9 のいずれかに記載の化合物。

10

実施形態 24 . 該標的領域が、配列番号 1 の核酸塩基 1 2 1 8 7 9 および核酸塩基 1 2 1 8 9 6 内にある、実施形態 1 ~ 9 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 25 . 該標的領域が、配列番号 1 の核酸塩基 1 2 1 8 7 8 および核酸塩基 1 2 1 8 9 5 内にある、実施形態 1 ~ 9 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 26 . 該標的領域が、配列番号 1 の核酸塩基 1 2 1 8 7 7 および核酸塩基 1 2 1 8 9 4 内にある、実施形態 1 ~ 9 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 27 . 該標的領域が、配列番号 1 の核酸塩基 1 2 1 8 7 6 および核酸塩基 1 2 1 8 9 3 内にある、実施形態 1 ~ 9 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 28 . 該標的領域が、配列番号 1 の核酸塩基 1 2 1 8 7 5 および核酸塩基 1 2 1 8 9 2 内にある、実施形態 1 ~ 9 のいずれかに記載の化合物。

20

実施形態 29 . 該標的領域が、配列番号 1 の核酸塩基 1 2 1 8 7 4 および核酸塩基 1 2 1 8 9 1 内にある、実施形態 1 ~ 9 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 30 . 該標的領域が、配列番号 1 の核酸塩基 1 2 1 8 7 3 および核酸塩基 1 2 1 8 9 0 内にある、実施形態 1 ~ 9 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 31 . 該修飾オリゴヌクレオチドの該核酸塩基配列が、配列番号 8 ~ 200 のうちのいずれかの核酸塩基配列を含む、実施形態 1 ~ 15 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 32 . 該修飾オリゴヌクレオチドの該核酸塩基配列が、配列番号 8 ~ 200 のうちのいずれかの核酸塩基配列からなる、実施形態 1 ~ 15 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 33 . 該修飾オリゴヌクレオチドの該核酸塩基配列が、配列番号 33、34、147、148、149、150、151、152、または 153 のうちのいずれかの核酸塩基配列を含む、実施形態 1 ~ 15 のいずれかに記載の化合物。

30

実施形態 34 . 該修飾オリゴヌクレオチドの該核酸塩基配列が、配列番号 33、34、147、148、149、150、151、152、または 153 のうちのいずれかの核酸塩基配列からなる、実施形態 1 ~ 15 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 35 . 該修飾オリゴヌクレオチドの該核酸塩基配列が、配列番号 31、33、34、35、36、37、45、72、79、82、83、97、106、107、112、113、130、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、157、158、160、または 200 のうちのいずれかの核酸塩基配列を含む、実施形態 1 ~ 15 のいずれかに記載の化合物。

40

実施形態 36 . 該修飾オリゴヌクレオチドの該核酸塩基配列が、配列番号 31、33、34、35、36、37、45、72、79、82、83、97、106、107、112、113、130、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、157、158、160、または 200 のうちのいずれかの核酸塩基配列からなる、実施形態 1 ~ 15 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 37 . 該修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシドを含む、実施形態 1 ~ 36 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 38 . 少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシドが、修飾糖部分を含む、実施形態 37 に記載の化合物。

50

実施形態 39 . 少なくとも 1 つの修飾糖部分が、2' - 置換糖部分である、実施形態 37 に記載の化合物。

実施形態 40 . 少なくとも 1 つの 2' - 置換糖部分の該 2' - 置換基が、2' - OMe、2' - F、および 2' - MOE から選択される、実施形態 39 に記載の化合物。

実施形態 41 . 少なくとも 1 つの 2' - 置換糖部分の該 2' - 置換基が、2' - MOE である、実施形態 39 に記載の化合物。

実施形態 42 . 少なくとも 1 つの修飾糖部分が、二環式糖部分である、実施形態 37 ~ 38 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 43 . 少なくとも 1 つの二環式糖部分が、LNA または cet である、実施形態 42 に記載の化合物。

10

実施形態 44 . 少なくとも 1 つの糖部分が、糖代理物である、実施形態 37 ~ 43 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 45 . 少なくとも 1 つの糖代理物が、モルフォリノである、実施形態 44 に記載の化合物。

実施形態 46 . 少なくとも 1 つの糖代理物が、修飾モルフォリノである、実施形態 44 に記載の化合物。

実施形態 47 . 該修飾オリゴヌクレオチドが、各々独立して修飾糖部分を含む少なくとも 5 個の修飾ヌクレオシドを含む、実施形態 1 ~ 46 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 48 . 該修飾オリゴヌクレオチドが、各々独立して修飾糖部分を含む少なくとも 10 個の修飾ヌクレオシドを含む、実施形態 47 に記載の化合物。

20

実施形態 49 . 該修飾オリゴヌクレオチドが、各々独立して修飾糖部分を含む少なくとも 15 個の修飾ヌクレオシドを含む、実施形態 47 に記載の化合物。

実施形態 50 . 該修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドが、修飾ヌクレオシドであり、各々独立して、修飾糖部分を含み、各修飾ヌクレオシドの該修飾糖部分が、各々、互いに同一である、実施形態 47 に記載の化合物。

実施形態 51 . 該修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドが、各々独立して修飾糖部分を含む修飾ヌクレオシドである、実施形態 47 に記載の化合物。

実施形態 52 . 該修飾オリゴヌクレオチドが、互いに同一である修飾糖部分を含む少なくとも 2 個の修飾ヌクレオシドを含む、実施形態 1 ~ 51 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 53 . 該修飾オリゴヌクレオチドが、互いに異なる修飾糖部分を含む少なくとも 2 個の修飾ヌクレオシドを含む、実施形態 1 ~ 52 のいずれかに記載の化合物。

30

実施形態 54 . 該修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 5 個の連続した修飾ヌクレオシドを含む修飾領域を含む、実施形態 1 ~ 53 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 55 . 該修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 10 個の連続した修飾ヌクレオシドを含む修飾領域を含む、実施形態 54 に記載の化合物。

実施形態 56 . 該修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 15 個の連続した修飾ヌクレオシドを含む修飾領域を含む、実施形態 54 に記載の化合物。

実施形態 57 . 該修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 18 個の連続した修飾ヌクレオシドを含む修飾領域を含む、実施形態 54 に記載の化合物。

実施形態 58 . 該修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 20 個の連続した修飾ヌクレオシドを含む修飾領域を含む、実施形態 54 に記載の化合物。

40

実施形態 59 . 該修飾領域の各修飾ヌクレオシドが、独立して、2' - F、2' - OMe、2' - MOE、cet、LNA、モルフォリノ、および修飾モルフォリノから選択される修飾糖部分を有する、実施形態 53 ~ 58 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 60 . 該修飾領域の該修飾ヌクレオシドが、各々、互いに同じ修飾を含む、実施形態 54 ~ 59 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 61 . 該修飾領域の該修飾ヌクレオシドが、各々、同じ 2' - 置換糖部分を含む、実施形態 60 に記載の化合物。

実施形態 62 . 修飾ヌクレオシドの該領域の該修飾ヌクレオシドの該 2' - 置換糖部分が、2' - F、2' - OMe、および 2' - MOE から選択される、実施形態 61 に記載の

50



化合物。

実施形態 63 . 修飾ヌクレオシドの該領域の該修飾ヌクレオシドの該 2' - 置換糖部分が、2' - MOE である、実施形態 61 に記載の化合物。

実施形態 64 . 修飾ヌクレオシドの該領域の該修飾ヌクレオシドが、各々、同じ二環式糖部分を含む、実施形態 59 に記載の化合物。

実施形態 65 . 修飾ヌクレオシドの該領域の該修飾ヌクレオシドの該二環式糖部分が、LNA および cEt から選択される、実施形態 64 に記載の化合物。

実施形態 66 . 修飾ヌクレオシドの該領域の該修飾ヌクレオシドが、各々、糖代理物を含む、実施形態 59 に記載の化合物。

実施形態 67 . 修飾ヌクレオシドの該領域の該修飾ヌクレオシドの該糖代理物が、モルフォリノである、実施形態 66 に記載の化合物。

実施形態 68 . 修飾ヌクレオシドの該領域の該修飾ヌクレオシドの該糖代理物が、修飾モルフォリノである、実施形態 66 に記載の化合物。

実施形態 69 . 該修飾ヌクレオチドが、4 個未満の連続した天然に存在するヌクレオシドを含む、実施形態 1 ~ 68 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 70 . 該修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドが、修飾ヌクレオシドである、実施形態 1 ~ 68 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 71 . 各修飾ヌクレオシドが、修飾糖部分を含む、実施形態 70 に記載の化合物。

実施形態 72 . 該修飾オリゴヌクレオチドの該修飾ヌクレオシドが、互いに同じ修飾を含む、実施形態 71 に記載の化合物。

実施形態 73 . 該修飾オリゴヌクレオチドの該修飾ヌクレオシドが、各々、同じ 2' - 置換糖部分を含む、実施形態 72 に記載の化合物。

実施形態 74 . 該修飾オリゴヌクレオチドの該 2' - 置換糖部分が、2' - F、2' - OMe、および 2' - MOE から選択される、実施形態 73 に記載の化合物。

実施形態 75 . 該修飾オリゴヌクレオチドの該 2' - 置換糖部分が、2' - MOE である、実施形態 74 に記載の化合物。

実施形態 76 . 該修飾オリゴヌクレオチドの該修飾ヌクレオシドが、各々、同じ二環式糖部分を含む、実施形態 72 に記載の化合物。

実施形態 77 . 該修飾オリゴヌクレオチドの該二環式糖部分が、LNA および cEt から選択される、実施形態 76 に記載の化合物。

実施形態 78 . 該修飾オリゴヌクレオチドの該修飾ヌクレオシドが、各々、糖代理物を含む、実施形態 72 に記載の化合物。

実施形態 79 . 該修飾オリゴヌクレオチドの該糖代理物が、モルフォリノである、実施形態 78 に記載の化合物。

実施形態 80 . 該修飾オリゴヌクレオチドの該糖代理物が、修飾モルフォリノである、実施形態 78 に記載の化合物。

実施形態 81 . 該修飾オリゴヌクレオチドが、 $A - B_2 - A - B_2 - A - B_2 - A - B_2 - A - B_2 - A - B_2 - A_2$  モチーフを有し、各 A が、二環式糖部分を含み、各 B が、2' - 置換糖部分および非修飾 2' - デオキシ糖部分から選択される、実施形態 1 ~ 36 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 82 . 各 A が、cEt 糖部分である、実施形態 81 に記載の化合物。

実施形態 83 . 各 A が、LNA 糖部分である、実施形態 81 に記載の化合物。

実施形態 84 . 各 B が、非修飾 2' - デオキシ糖部分である、実施形態 81 ~ 83 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 85 . 各 B が、2' - MOE 糖部分である、実施形態 81 ~ 83 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 86 . 該修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシド間結合を含む、実施形態 1 ~ 85 のいずれかに記載の化合物。

実施形態 87 . 各ヌクレオシド間結合が、修飾ヌクレオシド間結合である、実施形態 86

10

20

30

40

50

実施形態 110. ISIS 670012 からの化合物。

実施形態 1 1 1 . I S I S	6 7 0 0 1 3	からなる化合物。	
実施形態 1 1 2 . I S I S	6 7 0 0 1 4	からなる化合物。	
実施形態 1 1 3 . I S I S	6 7 0 0 1 5	からなる化合物。	
実施形態 1 1 4 . I S I S	6 7 0 0 1 6	からなる化合物。	
実施形態 1 1 5 . I S I S	6 7 0 0 1 7	からなる化合物。	
実施形態 1 1 6 . I S I S	6 7 0 0 1 8	からなる化合物。	
実施形態 1 1 7 . I S I S	6 7 0 0 1 9	からなる化合物。	
実施形態 1 1 8 . I S I S	6 7 0 0 2 0	からなる化合物。	
実施形態 1 1 9 . I S I S	6 7 0 0 2 1	からなる化合物。	
実施形態 1 2 0 . I S I S	6 7 0 0 2 2	からなる化合物。	10
実施形態 1 2 1 . I S I S	6 7 0 0 2 3	からなる化合物。	
実施形態 1 2 2 . I S I S	6 7 0 0 2 4	からなる化合物。	
実施形態 1 2 3 . I S I S	6 7 0 0 2 5	からなる化合物。	
実施形態 1 2 4 . I S I S	6 7 0 0 2 6	からなる化合物。	
実施形態 1 2 5 . I S I S	6 7 0 0 2 7	からなる化合物。	
実施形態 1 2 6 . I S I S	6 7 0 0 2 8	からなる化合物。	
実施形態 1 2 7 . I S I S	6 7 8 3 2 9	からなる化合物。	
実施形態 1 2 8 . I S I S	6 7 8 3 3 0	からなる化合物。	
実施形態 1 2 9 . I S I S	6 7 8 3 3 1	からなる化合物。	
実施形態 1 3 0 . I S I S	6 7 8 3 3 2	からなる化合物。	20
実施形態 1 3 1 . I S I S	6 7 8 3 3 3	からなる化合物。	
実施形態 1 3 2 . I S I S	6 7 8 3 3 4	からなる化合物。	
実施形態 1 3 3 . I S I S	6 9 3 8 4 0	からなる化合物。	
実施形態 1 3 4 . I S I S	6 9 3 8 4 1	からなる化合物。	
実施形態 1 3 5 . I S I S	6 9 3 8 4 2	からなる化合物。	
実施形態 1 3 6 . I S I S	6 9 3 8 4 3	からなる化合物。	
実施形態 1 3 7 . I S I S	6 9 3 8 4 4	からなる化合物。	
実施形態 1 3 8 . I S I S	6 9 3 8 4 5	からなる化合物。	
実施形態 1 3 9 . I S I S	6 9 3 8 4 6	からなる化合物。	
実施形態 1 4 0 . I S I S	6 9 3 8 4 7	からなる化合物。	30
実施形態 1 4 1 . I S I S	6 9 3 8 4 8	からなる化合物。	
実施形態 1 4 2 . I S I S	6 9 3 8 4 9	からなる化合物。	
実施形態 1 4 3 . I S I S	5 4 9 5 7 7	からなる化合物。	
実施形態 1 4 4 . I S I S	5 4 9 5 8 0	からなる化合物。	
実施形態 1 4 5 . I S I S	5 4 9 5 8 1	からなる化合物。	
実施形態 1 4 6 . I S I S	5 4 9 5 8 2	からなる化合物。	
実施形態 1 4 7 . I S I S	5 4 9 5 8 3	からなる化合物。	
実施形態 1 4 8 . I S I S	5 4 9 5 8 4	からなる化合物。	
実施形態 1 4 9 . I S I S	5 4 9 5 8 5	からなる化合物。	
実施形態 1 5 0 . I S I S	5 4 9 5 8 6	からなる化合物。	40
実施形態 1 5 1 . I S I S	6 1 7 3 4 1	からなる化合物。	
実施形態 1 5 2 . I S I S	6 1 7 3 5 1	からなる化合物。	
実施形態 1 5 3 . I S I S	6 1 7 3 5 2	からなる化合物。	
実施形態 1 5 4 . I S I S	6 1 7 3 5 3	からなる化合物。	
実施形態 1 5 5 . I S I S	6 1 7 3 5 8	からなる化合物。	
実施形態 1 5 6 . I S I S	6 1 7 3 6 0	からなる化合物。	
実施形態 1 5 7 . I S I S	6 1 7 3 6 1	からなる化合物。	
実施形態 1 5 8 . I S I S	6 1 7 3 6 2	からなる化合物。	
実施形態 1 5 9 . 細胞内のタウ転写物のスプライシングを調節する方法であって、該細胞を実施形態 1 ~ 1 5 8 のいずれかに記載の化合物と接触させることを含む、方法。			50

実施形態 1 6 0 . 該細胞が、生体外に存在する、実施形態 1 5 8 に記載の方法。  
実施形態 1 6 1 . 該細胞が、動物中に存在する、実施形態 1 5 8 に記載の方法。  
実施形態 1 6 2 . 細胞内のタウタンパク質の発現を調節する方法であって、該細胞を実施形態 1 ~ 1 5 8 のいずれかに記載の化合物と接触させることを含む、方法。  
実施形態 1 6 3 . タウタンパク質の 4 R アイソフォームの発現が減少する、実施形態 1 6 2 に記載の方法。  
実施形態 1 6 4 . タウタンパク質の 3 R アイソフォームの発現が増加する、実施形態 1 6 2 に記載の方法。  
実施形態 1 6 5 . 該細胞が、生体外に存在する、実施形態 1 6 2 ~ 1 6 4 のいずれかに記載の方法。  
実施形態 1 6 6 . 該細胞が動物に存在する、実施形態 1 6 2 ~ 1 6 4 のいずれかに記載の方法。  
実施形態 1 6 7 . タウ関連障害に関連する 1 つ以上の症状を低減または改善する方法であって、細胞を実施形態 1 ~ 1 5 8 のいずれかに記載の化合物と接触させることを含む、方法。  
実施形態 1 6 8 . 該症状が、発作である、実施形態 1 6 7 に記載の方法。  
実施形態 1 6 9 . 該細胞が動物に存在する、実施形態 1 6 7 ~ 1 6 8 のいずれかに記載の方法。  
実施形態 1 7 0 . 実施形態 1 ~ 1 5 8 のいずれかに記載の化合物と、薬学的に許容される担体または希釈剤と、を含む、医薬組成物。  
実施形態 1 7 1 . 該薬学的に許容される担体または希釈剤が、滅菌生理食塩水である、実施形態 1 7 0 に記載の医薬組成物。  
実施形態 1 7 2 . 実施形態 1 7 0 または 1 7 1 に記載の医薬組成物を動物に投与することを含む、方法。  
実施形態 1 7 3 . 該投与が注射による、実施形態 1 7 2 に記載の方法。  
実施形態 1 7 4 . 該投与が全身性である、実施形態 1 7 2 または 1 7 3 に記載の方法。  
実施形態 1 7 5 . 該投与が CNS に対してである、実施形態 1 7 2 または 1 7 3 に記載の方法。  
実施形態 1 7 6 . 該動物が、1 つ以上のタウ関連障害に関連する 1 つ以上の症状を有する、実施形態 1 7 2 ~ 1 7 5 のいずれかに記載の方法。  
実施形態 1 7 7 . 該投与が、1 つ以上のタウ関連障害に関連する 1 つ以上の症状の改善をもたらす、実施形態 1 7 6 に記載の方法。  
実施形態 1 7 8 . 該動物が、アルツハイマー病に関連する 1 つ以上の症状を有する、実施形態 1 7 2 ~ 1 7 5 のいずれかに記載の方法。  
実施形態 1 7 9 . 該投与が、アルツハイマー病に関連する 1 つ以上の症状の改善をもたらす、実施形態 1 7 8 に記載の方法。  
実施形態 1 8 0 . 該動物がマウスである、実施形態 1 7 2 ~ 1 7 9 のいずれかに記載の方法。  
実施形態 1 8 1 . 該動物がヒトである、請求項 1 7 2 ~ 1 7 9 のいずれかに記載の方法。  
実施形態 1 8 2 . タウ関連障害の治療において使用するための薬剤の調製のための、実施形態 1 ~ 1 5 8 のいずれかに記載の化合物または実施形態 1 7 0 ~ 1 7 1 に記載の組成物の使用。  
実施形態 1 8 3 . タウ関連障害に関連する 1 つ以上の症状の改善において使用するための薬剤の調製のための、実施形態 1 ~ 1 5 8 のいずれかに記載の化合物または実施形態 1 7 0 ~ 1 7 1 に記載の組成物の使用。  
実施形態 1 8 4 . 該核酸塩基配列が、配列番号 4 5、6 6、6 8、6 9、または 2 0 0 で示される核酸塩基配列からならない、実施形態 1 ~ 1 8 3 のいずれかに記載の化合物、組成物、または方法。  
実施形態 1 8 5 . 該核酸塩基配列が、核酸塩基配列 C C A G C T T C T T A T T A A T T A T C または T A A G A T C C A G C T T C T T A T T A からならない、実施形態 1 ~ 1

10

20

30

40

50

83のいずれかに記載の化合物、組成物、または方法。

実施形態186. 該標的領域が、配列番号1の核酸塩基121828および核酸塩基121847内にはない、実施形態1～183のいずれかに記載の化合物、組成物、または方法。

実施形態187. 該標的領域が、配列番号1の核酸塩基121834および核酸塩基121853内にはない、実施形態1～183のいずれかに記載の化合物、組成物、または方法。

実施形態188. 該標的領域が、配列番号1の核酸塩基121840および核酸塩基121859内にはない、実施形態1～183のいずれかに記載の化合物、組成物、または方法。

10

実施形態189. 該標的領域が、配列番号1の核酸塩基121924および核酸塩基121941内にはない、実施形態1～183のいずれかに記載の化合物、組成物、または方法。

実施形態190. 該標的領域が、配列番号1の核酸塩基121012および核酸塩基121029内にはない、実施形態1～183のいずれかに記載の化合物、組成物、または方法。

実施形態191. 該標的領域が、配列番号1の核酸塩基121020および核酸塩基121037内にはない、実施形態1～183のいずれかに記載の化合物、組成物、または方法。

実施形態192. 該標的領域が、配列番号1の核酸塩基121024および核酸塩基121041内にはない、実施形態1～183のいずれかに記載の化合物、組成物、または方法。

20

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0022】

【図1】タウアイソフォームの図表示を示す。アイソフォームは、チューブリン結合ドメインの数（タンパク質のC末端側部分に位置する3個または4個の反復）の点で互いに異なり得、それぞれ、3Rまたは4RTauアイソフォームと称される。それらはまた、タンパク質のN末端部分における1個または2個の29アミノ酸長の強酸性挿入物（プロジェクションドメイン）の存在または不在の点で異なり得る。プロジェクションドメインと微小管結合ドメインとの間に、塩基性プロリンリッチ領域が位置する。

30

#### 【発明を実施するための形態】

#### 【0023】

特定の定義が提供されない限り、本明細書に記載の分析化学、合成有機化学、ならびに医化学および製薬化学に関連して用いられる学名、ならびにそれらの手順および技法は、周知であり、当技術分野で一般に使用されるものである。標準の技法は、化学合成および化学分析において使用され得る。ある特定のそのような技法および手順は、例えば、“Carbohydrate Modifications in Antisense Research” Edited by Sangvi and Cook, American Chemical Society, Washington D.C., 1994、“Remington’s Pharmaceutical Sciences,” Mack Publishing Co., Easton, Pa., 21<sup>st</sup> edition, 2005、および“Antisense Drug Technology, Principles, Strategies, and Applications” Edited by Stanley T. Crooke, CRC Press, Boca Raton, Florida、ならびに Sambrook et al., “Molecular Cloning, A Laboratory Manual,” 2<sup>nd</sup> Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989において見出すことができ、これらは、あらゆる目的のために参照により本明細書に組み込まれる。許容される場合、本開示を通して参照されるすべての特許、出願、公開された出願、および他の出版物、ならびに他のデータは、参照によりそれらの全体が

40

50

本明細書に組み込まれる。

【0024】

別途示されない限り、以下の用語は、以下の意味を有する。

【0025】

本明細書で使用されるとき、「ヌクレオシド」とは、核酸塩基部分および糖部分を含む化合物を意味する。ヌクレオシドには、天然に存在するヌクレオシド(DNAおよびRNAに見られるもの)ならびに修飾ヌクレオシドが含まれるが、これらに限定されない。ヌクレオシドは、ホスフェート部分に連結され得る。

【0026】

本明細書で使用されるとき、「化学修飾」とは、天然に存在する対応物と比較した場合の化合物の化学的相違を意味する。オリゴヌクレオチドに関して、化学修飾は、核酸塩基配列においてのみ相違を含まない。オリゴヌクレオチド化学修飾は、ヌクレオシド修飾(糖部分修飾および核酸塩基修飾を含む)ならびにヌクレオシド間結合修飾を含む。

10

【0027】

本明細書で使用されるとき、「フラノシル」とは、4個の炭素原子と1個の酸素原子とを含む5員環を含む構造を意味する。

【0028】

本明細書で使用されるとき、「天然に存在する糖部分」とは、天然に存在するRNAに見られるリボフラノシルまたは天然に存在するDNAに見られるデオキシリボフラノシルを意味する。

20

【0029】

本明細書で使用されるとき、「糖部分」とは、ヌクレオシドの天然に存在する糖部分または修飾糖部分を意味する。

【0030】

本明細書で使用されるとき、「修飾糖部分」とは、置換糖部分、二環式もしくは三環式糖部分、または糖代理物を意味する。

【0031】

本明細書で使用されるとき、「置換糖部分」とは、天然に存在する糖部分のものとは異なる少なくとも1つの置換基を含むフラノシルを意味する。置換糖部分には、2'位、3'位、5'位、および/または4'位に置換基を含むフラノシルが含まれるが、これらに限定されない。

30

【0032】

本明細書で使用されるとき、「2'-置換糖部分」とは、HまたはOH以外の2'位に置換基を含むフラノシルを意味する。別途示されない限り、2'-置換糖部分は、二環式糖部分ではない(すなわち、2'-置換糖部分の2'-置換基は、フラノシル環の別の原子への橋を形成しない)。

【0033】

本明細書で使用されるとき、「MOE」とは、 $-OCH_2CH_2OCH_3$ を意味する。

【0034】

本明細書で使用されるとき、「二環式糖部分」とは、4~7員環の2個の原子をつないで第2の環を形成して、二環式構造をもたらす橋を含む4~7員環(フラノシルを含むが、これに限定されない)を含む修飾糖部分を意味する。ある特定の実施形態において、4~7員環は、糖環である。ある特定の実施形態において、4~7員環は、フラノシルである。ある特定のそのような実施形態において、橋は、フラノシルの2'-炭素と4'-炭素とをつなぐ。

40

【0035】

本明細書で使用されるとき、「糖代理物」という用語は、結果として生じるヌクレオシドが、(1)オリゴヌクレオチドへの組み込み、かつ(2)相補的なヌクレオシドへのハイブリダイゼーションが可能であるように、フラノシルを含まず、かつヌクレオシドの天然に存在する糖部分を置換することができる構造を意味する。そのような構造は、フラノ

50

シル（例えば、4、6、もしくは7員環）とは異なる数の原子、フラノシルの酸素の非酸素原子（例えば、炭素、硫黄、もしくは窒素）への置換、または原子の数の変化および酸素の置換の両方を含む環を含む。そのような構造はまた、置換糖部分（例えば、さらなる置換基を任意に含む6員炭素環式二環式糖代理物）について記載された置換に対応する置換も含み得る。糖代理物はまた、より複雑な糖置換物（例えば、ペプチド核酸の非環系）も含む。糖代理物には、モルフォリノ、修飾モルフォリノ、シクロヘキセニル、およびシクロヘキシトールが含まれるが、これらに限定されない。

【0036】

本明細書で使用されるとき、「ヌクレオチド」とは、ホスフェート結合基をさらに含むヌクレオシドを意味する。本明細書で使用されるとき、「連結したヌクレオチド」は、ホスフェート結合によって連結されてもされなくてもよく、それ故に、「連結したヌクレオチド」を含むが、これに限定されない。本明細書で使用されるとき、「連結したヌクレオチド」は、連続した配列において連結されるヌクレオチドである（すなわち、さらなるヌクレオチドは、連結される配列間に存在しない）。

10

【0037】

本明細書で使用されるとき、「核酸塩基」とは、糖部分に連結されてオリゴヌクレオチドに組み込むことができるヌクレオチドを作成することができる原子団を意味し、この原子団は、別のオリゴヌクレオチドまたは核酸の相補的な天然に存在する核酸塩基と結合することができる。核酸塩基は、天然に存在し得るか、または修飾され得る。

【0038】

20

本明細書で使用されるとき、「複素環式塩基」または「複素環式核酸塩基」とは、複素環式構造を含む核酸塩基を意味する。

【0039】

本明細書で使用されるとき、「非修飾核酸塩基」または「天然に存在する核酸塩基」という用語は、RNAまたはDNAの天然に存在する複素環式核酸塩基を意味し、プリンは、アデニン（A）およびグアニン（G）をベースとし、ピリミジンは、チミン（T）、シトシン（C）（5-メチルCを含む）、およびウラシル（U）をベースとする。

【0040】

本明細書で使用されるとき、「修飾核酸塩基」とは、天然に存在する核酸塩基ではない任意の核酸塩基を意味する。

30

【0041】

本明細書で使用されるとき、「修飾ヌクレオチド」とは、天然に存在するRNAまたはDNAヌクレオチドと比較して、少なくとも1個の化学修飾を含むヌクレオチドを意味する。修飾ヌクレオチドは、修飾糖部分および/または修飾核酸塩基を含む。

【0042】

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

【0043】

本明細書で使用されるとき、「拘束エチルヌクレオチド」または「cEt」とは、4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2'橋を含む二環式糖部分を含むヌクレオチドを意味する。

40

【0044】

本明細書で使用されるとき、「ロックド核酸ヌクレオチド」または「LNA」とは、4'-CH<sub>2</sub>-O-2'橋を含む二環式糖部分を含むヌクレオチドを意味する。

【0045】

本明細書で使用されるとき、「2'-置換ヌクレオチド」とは、HまたはOH以外の2'位に置換基を含むヌクレオチドを意味する。別途示されない限り、2'-置換ヌクレオチドは、二環式ヌクレオチドではない。

【0046】

本明細書で使用されるとき、「2'-デオキシヌクレオチド」とは、天然に存在するデオキシリボヌクレオチド（DNA）に見られる2'-Hフラノシル糖部分を含むヌクレオ

50

シドを意味する。ある特定の実施形態において、2' - デオキシヌクレオシドは、修飾核酸塩基を含み得るか、またはRNA核酸塩基（例えば、ウラシル）を含み得る。

【0047】

本明細書で使用されるとき、「オリゴヌクレオチド」とは、複数個の連結したヌクレオシドを含む化合物を意味する。ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、1個以上の非修飾リボヌクレオシド（RNA）および/または非修飾デオキシリボヌクレオシド（DNA）および/または1個以上の修飾ヌクレオシドを含む。

【0048】

本明細書で使用されるとき、「オリゴヌクレオシド」とは、ヌクレオシド間結合のうちのいずれもリン原子を含有しないオリゴヌクレオチドを意味する。本明細書で使用されるとき、オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオシドを含む。

10

【0049】

本明細書で使用されるとき、「修飾オリゴヌクレオチド」とは、少なくとも1個の修飾ヌクレオシドおよび/または少なくとも1個の修飾ヌクレオシド間結合を含むオリゴヌクレオチドを意味する。

【0050】

本明細書で使用されるとき、「ヌクレオシド間結合」とは、オリゴヌクレオチド中の隣接したヌクレオシド間の共有結合を意味する。

【0051】

本明細書で使用されるとき、「天然に存在するヌクレオシド間結合」とは、3' から 5' へのホスホジエステル結合を意味する。

20

【0052】

本明細書で使用されるとき、「修飾ヌクレオシド間結合」とは、天然に存在するヌクレオシド間結合以外の任意のヌクレオシド間結合を意味する。

【0053】

本明細書で使用されるとき、「オリゴマー化合物」とは、2つ以上の下部構造を含む重合体構造を意味する。ある特定の実施形態において、オリゴマー化合物は、オリゴヌクレオチドを含む。ある特定の実施形態において、オリゴマー化合物は、1個以上の共役基および/または末端基を含む。ある特定の実施形態において、オリゴマー化合物は、オリゴヌクレオチドからなる。

30

【0054】

本明細書で使用されるとき、「末端基」とは、オリゴヌクレオチドの3' 末端もしくは5' 末端のいずれか、またはこれら両方に結合される1個以上の原子を意味する。ある特定の実施形態において、末端基は、共役基である。ある特定の実施形態において、末端基は、1個以上の末端基ヌクレオシドを含む。

【0055】

本明細書で使用されるとき、「共役体」とは、オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物に結合される原子または原子団を意味する。概して、共役基は、薬力学的特性、薬物動態学的特性、結合特性、吸収特性、細胞分布特性、細胞取り込み特性、電荷特性、および/またはクリアランス特性を含むが、これらに限定されない、それらが結合する化合物の1つ以上の特性を修飾する。

40

【0056】

本明細書で使用されるとき、「共役体結合基」とは、共役体をオリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物に結合させるために用いられる任意の原子または原子団を意味する。

【0057】

本明細書で使用されるとき、「アンチセンス化合物」とは、オリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなる化合物を意味し、その少なくとも一部は、それがハイブリダイズすることができる標的核酸に相補的であり、少なくとも1つのアンチセンス活性をもたらす。

【0058】

50



本明細書で使用されるとき、「アンチセンス活性」とは、アンチセンス化合物のその標的核酸へのハイブリダイゼーションに起因する任意の検出可能および/または測定可能な変化を意味する。

【0059】

本明細書で使用されるとき、「検出」または「測定」とは、検出または測定のための試験またはアッセイが実行されることを意味する。そのような検出および/または測定は、ゼロの値をもたらす得る。したがって、検出または測定のための試験が活性なし（ゼロの活性）の知見をもたらす場合、活性を検出または測定するステップは、それでもやはり実行されている。

【0060】

本明細書で使用されるとき、「検出可能および/または測定可能な活性」とは、ゼロではない統計的に有意な活性を意味する。

【0061】

本明細書で使用されるとき、「本質的に不変」とは、はるかに変化する別のパラメータと特に比較して、特定のパラメータに変化がほとんどまたは全くないことを意味する。ある特定の実施形態において、あるパラメータが5%未満変化するとき、そのパラメータは、本質的に不変である。ある特定の実施形態において、あるパラメータが2倍未満変化する場合、そのパラメータは、本質的に不変である一方で、別のパラメータは、少なくとも10倍変化する。例えば、ある特定の実施形態において、アンチセンス活性は、標的核酸の量の変化である。ある特定のそのような実施形態において、非標的核酸の量の変化が標的核酸の量の変化よりもはるかに小さい場合、それは本質的に不変であるが、変化がゼロである必要はない。

【0062】

本明細書で使用されるとき、「発現」とは、遺伝子が最終的にタンパク質をもたらす工程を意味する。発現には、転写、転写後修飾（例えば、スプライシング、ポリアデニル化、5'-キャップの付加）、および翻訳が含まれるが、これらに限定されない。

【0063】

本明細書で使用されるとき、「標的核酸」とは、アンチセンス化合物がハイブリダイズする核酸分子を意味する。

【0064】

本明細書で使用されるとき、「mRNA」とは、タンパク質をコードするRNA分子を意味する。

【0065】

本明細書で使用されるとき、「プレmRNA」とは、mRNAに完全に処理されていないRNA転写物を意味する。プレRNAは、1つ以上のイントロンを含む。

【0066】

本明細書で使用されるとき、「転写物」とは、DNAから転写されるRNA分子を意味する。転写物には、mRNA、プレmRNA、および部分的に処理されたRNAが含まれるが、これらに限定されない。

【0067】

本明細書で使用されるとき、「タウ転写物」とは、タウ遺伝子から転写される転写物を意味する。ある特定の実施形態において、タウ転写物は、ヌクレオチド9240000~9381000（配列番号1）またはそれらの変異体から切断されたGENBANK受託番号NT\_010783.15によって表される。

【0068】

本明細書で使用されるとき、「タウ遺伝子」とは、タウタンパク質および任意のタウタンパク質アイソフォームをコードする遺伝子を意味する。ある特定の実施形態において、タウタンパク質アイソフォームは、3Rアイソフォームおよび4Rアイソフォームを含む。

【0069】

10

20

30

40

50

本明細書で使用されるとき、「3R」とは、エキソン10を含まないタウ転写物を意味する。

【0070】

本明細書で使用されるとき、「3Rタウアイソフォーム」とは、エキソン10でコードされたアミノ酸を含まないタウタンパク質アイソフォームを意味する。

【0071】

本明細書で使用されるとき、「4R」とは、エキソン10を含むタウ転写物を意味する。

【0072】

本明細書で使用されるとき、「4Rタウアイソフォーム」とは、エキソン10でコードされたアミノ酸を含むタウタンパク質アイソフォームを意味する。

10

【0073】

本明細書で使用されるとき、「タウ関連疾患」とは、タウに関連する任意の神経疾患または神経変性疾患を意味する。タウ関連障害の非限定的な例としては、アルツハイマー病、進行性核上麻痺、拳闘家認知症、前頭側頭型認知症、染色体に関連するパーキンソン症、リテイコ・ボディグ病、神経原線維変化優位性認知症、神経節腫、神経節細胞腫、髄膜血管腫症、亜急性硬化性全脳炎、鉛脳障害、結節性硬化症、ハラーフォルデン・スバツ病、ピック病、大脳皮質基底核神経節変性症、嗜銀顆粒病、進行性核上麻痺、大脳皮質基底核変性症、前頭側頭型認知症、または前頭側頭葉変性症が挙げられる。

【0074】

20

本明細書で使用されるとき、「タウオパシー」とは、脳内のタウタンパク質の蓄積によって特徴付けられる障害を意味する。

【0075】

本明細書で使用されるとき、「タウ特異的阻害剤」には、タウを標的にする「アンチセンス化合物」が含まれるが、これに限定されない。

【0076】

本明細書で使用されるとき、「標的とすること」または「を標的にする」とは、アンチセンス化合物の特定の標的核酸分子または標的核酸分子の特定の領域への関連付けを意味する。アンチセンス化合物は、標的核酸に対して、生理学的条件下でのハイブリダイゼーションを可能にするのに十分に相補的である場合、標的核酸を標的とする。

30

【0077】

本明細書で使用されるとき、核酸塩基に関して「核酸塩基相補性」または「相補性」とは、別の核酸塩基と塩基対合することができる核酸塩基を意味する。例えば、DNAにおいて、アデニン(A)は、チミン(T)に相補的である。例えば、RNAにおいて、アデニン(A)は、ウラシル(U)に相補的である。ある特定の形態において、相補的核酸塩基とは、その標的核酸の核酸塩基と塩基対合することができるアンチセンス化合物の核酸塩基を意味する。例えば、アンチセンス化合物のある特定の位置の核酸塩基が、標的核酸のある特定の位置の核酸塩基と水素結合することができる場合、オリゴヌクレオチドと標的核酸との間の水素結合の位置は、その核酸塩基対において相補的であると見なされる。ある特定の修飾を含む核酸塩基は、対応する核酸塩基と対合する能力を維持し得、それ故に、依然として核酸塩基相補性を有することができる。

40

【0078】

本明細書で使用されるとき、核酸塩基に関して「非相補的」とは、互いに水素結合を形成しない核酸塩基の対を意味する。

【0079】

本明細書で使用されるとき、オリゴマー化合物(例えば、連結したヌクレオシド、オリゴヌクレオチド、または核酸)に関して「相補的」とは、ストリンジェントな条件下で、そのようなオリゴマー化合物またはそれらの領域が核酸塩基相補性を介して別のオリゴマー化合物またはそれらの領域にハイブリダイズする能力を意味する。相補的なオリゴマー化合物は、各ヌクレオシドで核酸塩基相補性を有する必要はない。むしろ、いくつかの

50

ミスマッチが許容される。ある特定の実施形態において、相補的なオリゴマー化合物または領域は、核酸塩基の70%で相補的である(70%相補的である)。ある特定の実施形態において、相補的なオリゴマー化合物または領域は、80%相補的である。ある特定の実施形態において、相補的なオリゴマー化合物または領域は、90%相補的である。ある特定の実施形態において、相補的なオリゴマー化合物または領域は、95%相補的である。ある特定の実施形態において、相補的なオリゴマー化合物または領域は、100%相補的である。

【0080】

本明細書で使用されるとき、「ハイブリダイゼーション」とは、相補的なオリゴマー化合物(例えば、アンチセンス化合物およびその標的核酸)の対合を意味する。特定の機構に限定されないが、最も一般的な対合機構には水素結合が含まれ、これは、相補的核酸塩基間のワトソン・クリック水素結合、フーグスティーン水素結合、または逆フーグスティーン水素結合であり得る。

10

【0081】

本明細書で使用されるとき、「特異的にハイブリダイズする」とは、オリゴマー化合物が、ある核酸部位にハイブリダイズするよりも高い親和性で別の核酸部位にハイブリダイズする能力を意味する。ある特定の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、2個以上の標的部位に特異的にハイブリダイズする。

【0082】

本明細書で使用されるとき、「パーセント相補性」とは、標的核酸の等長部分に相補的なオリゴマー化合物の核酸塩基の割合を意味する。パーセント相補性は、標的核酸の対応する位置の核酸塩基に相補的なオリゴマー化合物の核酸塩基の数をオリゴマー化合物の全長で割ることによって計算される。

20

【0083】

本明細書で使用されるとき、「パーセント同一性」とは、第1の核酸の核酸塩基の総数で割った、第2の核酸の対応する位置の核酸塩基と同一の(化学修飾から独立した)種類の第1の核酸の核酸塩基の数を意味する。

【0084】

本明細書で使用されるとき、「調節」とは、調節前の分子、機能、もしくは活性の量または質と比較した、分子、機能、もしくは活性の量または質の変化を意味する。例えば、調節は、遺伝子発現における増加(刺激もしくは誘導)または減少(阻害もしくは低下)のいずれかの変化を含む。さらなる例として、発現の調節は、調節の不在下における量と比較した、特定のスプライス変異体の絶対量または相対量の変化をもたらすpre-mRNA処理のスプライス部位選択の変化を含み得る。

30

【0085】

本明細書で使用されるとき、「モチーフ」とは、オリゴマー化合物またはその領域における化学修飾のパターンを意味する。モチーフは、オリゴマー化合物のある特定のヌクレオチドおよび/またはある特定の結合基での修飾によって定義され得る。

【0086】

本明細書で使用されるとき、「ヌクレオチドモチーフ」とは、オリゴマー化合物またはその領域におけるヌクレオチド修飾のパターンを意味する。そのようなオリゴマー化合物の結合は、修飾または非修飾であり得る。別途示されない限り、本明細書においてヌクレオチドのみを記載するモチーフは、ヌクレオチドモチーフであるよう意図される。したがって、そのような事例において、結合は限定されない。

40

【0087】

本明細書で使用されるとき、「糖モチーフ」とは、オリゴマー化合物またはその領域における糖修飾のパターンを意味する。

【0088】

本明細書で使用されるとき、「結合モチーフ」とは、オリゴマー化合物またはその領域における結合修飾のパターンを意味する。そのようなオリゴマー化合物のヌクレオチドは

50

、修飾または非修飾であり得る。別途示されない限り、本明細書において結合のみを記載するモチーフは、結合モチーフであるよう意図される。したがって、そのような事例において、ヌクレオシドは限定されない。

【0089】

本明細書で使用されるとき、「核酸塩基修飾モチーフ」とは、オリゴヌクレオチドに沿った核酸塩基への修飾のパターンを意味する。別途示されない限り、核酸塩基修飾モチーフは、核酸塩基配列から独立している。

【0090】

本明細書で使用されるとき、「配列モチーフ」とは、オリゴヌクレオチドまたはその部分に沿って整列した核酸塩基のパターンを意味する。別途示されない限り、配列モチーフは、化学修飾から独立しており、それ故に、化学修飾なしを含む化学修飾の任意の組み合わせを有し得る。

10

【0091】

本明細書で使用されるとき、ヌクレオシドまたはある「種類」のヌクレオシドに関する「修飾の種類」とは、ヌクレオシドの化学修飾を意味し、修飾および非修飾ヌクレオシドを含む。したがって、別途示されない限り、「第1の種類の修飾を有するヌクレオシド」は、非修飾ヌクレオシドであり得る。

【0092】

本明細書で使用されるとき、「別々に修飾された」とは、修飾の不在を含む、互いに異なる化学修飾または化学置換基を意味する。したがって、例えば、MOEヌクレオシドおよび非修飾DNAヌクレオシドは、DNAヌクレオシドが修飾されていなくても「別々に修飾される」。同様に、DNAおよびRNAは、これら両方ともに天然に存在する非修飾ヌクレオシドであっても「別々に修飾される」。同一であるが、異なる核酸塩基を含むヌクレオシドは、別々に修飾されない。例えば、2'-OMe修飾糖および非修飾アデニン核酸塩基を含むヌクレオシドと2'-OMe修飾糖および非修飾チミン核酸塩基を含むヌクレオシドは、別々に修飾されない。

20

【0093】

本明細書で使用されるとき、「同一の種類の修飾」とは、修飾の不在を含む、互いに同一の修飾を指す。したがって、例えば、2個の非修飾DNAヌクレオシドは、DNAヌクレオシドが修飾されていなくても「同一の種類の修飾」を有する。同一の種類の修飾を有するそのようなヌクレオシドは、異なる核酸塩基を含み得る。

30

【0094】

本明細書で使用されるとき、「薬剤的に許容される担体または希釈剤」とは、動物への投与における使用に好適な任意の物質を意味する。ある特定の実施形態において、薬剤的に許容される担体または希釈剤は、滅菌生理食塩水である。ある特定の実施形態において、そのような滅菌生理食塩水は、医薬品グレードの生理食塩水である。

【0095】

本明細書で使用されるとき、「置換基(substituent)」および「置換基(substituent group)」とは、指名された親化合物の原子または基を置換する原子または基を意味する。例えば、修飾ヌクレオシドの置換基は、天然に存在するヌクレオシドに見られる原子または基とは異なる任意の原子または基である(例えば、修飾された2'-置換基は、HまたはOH以外のヌクレオシドの2'位の任意の原子または基である)。置換基は、保護されても保護されなくてもよい。ある特定の実施形態において、本発明の化合物は、親化合物の1つの位置または2つ以上の位置に置換基を有する。置換基は、他の置換基ともさらに置換され得、親化合物に直接結合され得るか、またはアルキル基もしくはヒドロカルビル基等の結合基を介して結合され得る。

40

【0096】

同様に、本明細書で使用されるとき、化学官能基に関する「置換基」とは、指名された官能基に通常存在する原子または原子団とは異なる原子または原子団を意味する。ある特定の実施形態において、置換基は、官能基の水素原子を置換する(例えば、ある特定の実

50

施形態において、置換メチル基の置換基は、非置換メチル基の水素原子のうちの1個を置換する水素以外の原子または基である)。別途示されない限り、置換基としての使用に従順な基には、ハロゲン、ヒドロキシル、アルキル、アルケニル、アルキニル、アシル( $-C(O)R_{aa}$ )、カルボキシル( $-C(O)O-R_{aa}$ )、脂肪族基、脂環式基、アルコキシ、置換オキシ( $-O-R_{aa}$ )、アリール、アラルキル、複素環式ラジカル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、アミノ( $-N(R_{bb})(R_{cc})$ )、イミノ( $=NR_{bb}$ )、アミド( $-C(O)N(R_{bb})(R_{cc})$ または $-N(R_{bb})C(O)R_{aa}$ )、アジド( $-N_3$ )、ニトロ( $-NO_2$ )、シアノ( $-CN$ )、カルバミド( $-OC(O)N(R_{bb})(R_{cc})$ または $-N(R_{bb})C(O)OR_{aa}$ )、ウレイド( $-N(R_{bb})C(O)N(R_{bb})(R_{cc})$ )、チオウレイド( $-N(R_{bb})C(S)N(R_{bb})(R_{cc})$ )、グアニジニル( $-N(R_{bb})C(=NR_{bb})N(R_{bb})(R_{cc})$ )、アミジニル( $-C(=NR_{bb})N(R_{bb})(R_{cc})$ または $-N(R_{bb})C(=NR_{bb})(R_{aa})$ )、チオール( $-SR_{bb}$ )、スルフィニル( $-S(O)R_{bb}$ )、スルホニル( $-S(O)_2R_{bb}$ )、およびスルホンアミジル( $-S(O)_2N(R_{bb})(R_{cc})$ または $-N(R_{bb})S(O)_2R_{bb}$ )が含まれるが、これらに限定されない。式中、 $R_{aa}$ 、 $R_{bb}$ 、および $R_{cc}$ は、独立して、H、任意に連結された化学官能基、またはアルキル、アルケニル、アルキニル、脂肪族、アルコキシ、アシル、アリール、アラルキル、ヘテロアリール、脂環式、複素環式、およびヘテロアリールアルキルを含むが、これらに限定されない好ましいリストを有するさらなる置換基である。本明細書に記載の化合物内の選択された置換基は、再帰的程度まで存在する。

#### 【0097】

本明細書で使用されるとき、本明細書で使用される「アルキル」とは、最大24個の炭素原子を含有する飽和直鎖または分岐鎖炭化水素ラジカルを意味する。アルキル基の例として、メチル、エチル、プロピル、ブチル、イソプロピル、n-ヘキシル、オクチル、デシル、ドデシル等が挙げられるが、これらに限定されない。アルキル基は、典型的には、1~約24個の炭素原子、より典型的には、1~約12個の炭素原子( $C_1 \sim C_{12}$ アルキル)を含み、1~約6個の炭素原子がより好ましい。

#### 【0098】

本明細書で使用されるとき、「アルケニル」とは、最大24個の炭素原子を含有し、かつ少なくとも1個の炭素-炭素二重結合を有する直鎖または分岐鎖炭化水素ラジカルを意味する。アルケニル基の例として、エテニル、プロペニル、ブテニル、1-メチル-2-ブテン-1-イル、1,3-ブタジエン等のジエン等が挙げられるが、これらに限定されない。アルケニル基は、典型的には、2~約24個の炭素原子、より典型的には、2~約12個の炭素原子を含み、2~約6個の炭素原子がより好ましい。本明細書で使用されるアルケニル基は、1個以上のさらなる置換基を任意に含み得る。

#### 【0099】

本明細書で使用されるとき、「アルキニル」とは、最大24個の炭素原子を含有し、かつ少なくとも1個の炭素-炭素三重結合を有する直鎖または分岐鎖炭化水素ラジカルを意味する。アルキニル基の例として、エチニル、1-プロピニル、1-ブチニル等が挙げられるが、これらに限定されない。アルキニル基は、典型的には、2~約24個の炭素原子、より典型的には、2~約12個の炭素原子を含み、2~約6個の炭素原子がより好ましい。本明細書で使用されるアルキニル基は、1個以上のさらなる置換基を任意に含み得る。

#### 【0100】

本明細書で使用されるとき、「アシル」とは、有機酸からのヒドロキシル基の除去によって形成されたラジカルを意味し、一般式 $-C(O)-X$ を有し、式中、Xは、典型的には、脂肪族、脂環式、または芳香族である。例として、脂肪族カルボニル、芳香族カルボニル、脂肪族スルホニル、芳香族スルフィニル、脂肪族スルフィニル、芳香族ホスフェート、脂肪族ホスフェート等が挙げられる。本明細書で使用されるアシル基は、さらなる置

換基を任意に含み得る。

【0101】

本明細書で使用されるとき、「脂環式」とは、環式環系を意味し、前記環は、脂肪族である。前記環系は、1個以上の環を含み得、少なくとも1個の環は、脂肪族である。好ましい脂環式基は、環内に約5～約9個の炭素原子を有する環を含む。本明細書で使用される脂環式基は、さらなる置換基を任意に含み得る。

【0102】

本明細書で使用されるとき、「脂肪族」とは、最大24個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖炭化水素ラジカルを意味し、任意の2個の炭素原子の間の飽和は、一重、二重、または三重結合である。脂肪族基は、好ましくは、1～約24個の炭素原子、より典型的には、1～約12個の炭素原子を含有し、1～約6個の炭素原子がより好ましい。脂肪族基の直鎖または分岐鎖は、窒素、酸素、硫黄、およびリンを含む1個以上のヘテロ原子で中断され得る。ヘテロ原子によって中断されるそのような脂肪族基には、ポリアルコキシ、例えば、ポリアルキレングリコール、ポリアミン、およびポリイミンが含まれるが、これらに限定されない。本明細書で使用される脂肪族基は、さらなる置換基を任意に含み得る。

【0103】

本明細書で使用されるとき、「アルコキシ」とは、アルキル基と酸素原子との間に形成されたラジカルを意味し、前記酸素原子を用いて、アルコキシ基を親分子に結合させる。アルコキシ基の例として、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、*n*-ブトキシ、*sec*-ブトキシ、*tert*-ブトキシ、*n*-ペントキシ、ネオペントキシ、*n*-ヘキソキシ等が挙げられるが、これらに限定されない。本明細書で使用されるアルコキシ基は、さらなる置換基を任意に含み得る。

【0104】

本明細書で使用されるとき、「アミノアルキル」とは、アミノ置換された $C_{1\sim 12}$ アルキルラジカルを意味する。前記ラジカルアルキル部分は、親分子と共有結合を形成する。アミノ基は、任意の位置に位置し得、アミノアルキル基は、アルキルおよび/またはアミノ部分のさらなる置換基で置換され得る。

【0105】

本明細書で使用されるとき、「アラルキル」および「アリーラルアルキル」とは、 $C_{1\sim 12}$ アルキルラジカルに共有結合される芳香族基を意味する。結果として生じるアラルキル（またはアリーラルアルキル）基のアルキルラジカル部分は、親分子と共有結合を形成する。例として、ベンジル、フェネチル等が挙げられるが、これらに限定されない。本明細書で使用されるアラルキル基は、ラジカル基を形成するアルキル、アリール、またはこれら両方の基に結合されるさらなる置換基を任意に含み得る。

【0106】

本明細書で使用されるとき、「アリール」および「芳香族」とは、1個以上の芳香族環を有する単環式または多環式炭素環式環系ラジカルを意味する。アリール基の例として、フェニル、ナフチル、テトラヒドロナフチル、インダニル、イデニル等が挙げられるが、これらに限定されない。好ましいアリール環系は、1個以上の環内に約5～約20個の炭素原子を有する。本明細書で使用されるアリール基は、さらなる置換基を任意に含み得る。

【0107】

本明細書で使用されるとき、「ハロ」および「ハロゲン」とは、フッ素、塩素、臭素、およびヨウ素から選択される原子を意味する。

【0108】

本明細書で使用されるとき、「ヘテロアリール」および「ヘテロ芳香族」とは、単環式もしくは多環式芳香族環、環系、または縮合環系を含むラジカルを意味し、前記環のうちの少なくとも1つは、芳香族であり、1個以上のヘテロ原子を含む。ヘテロアリールは、縮合環のうちの1個以上がヘテロ原子を含有しない系を含む縮合環系もまた含むよう意図

10

20

30

40

50

される。ヘテロアリアル基は、典型的には、硫黄、窒素、または酸素から選択される1個の環原子を含む。ヘテロアリアル基の例として、ピリジニル、ピラジニル、ピリミジニル、ピロリル、ピラゾリル、イミダゾリル、チアゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、チアジアゾリル、オキサジアゾリル、チオフエニル、フラニル、キノリニル、イソキノリニル、ベンズイミダゾリル、ベンゾオキサゾリル、キノキサリニル等が挙げられるが、これらに限定されない。ヘテロアリアルラジカルは、親分子に直接結合され得るか、または脂肪族基もしくはヘテロ原子等の結合部分を介して結合され得る。本明細書で使用されるヘテロアリアル基は、さらなる置換基を任意に含み得る。

#### 【0109】

#### オリゴマー化合物

10

ある特定の実施形態において、本発明は、オリゴマー化合物を提供する。ある特定の実施形態において、そのようなオリゴマー化合物は、1つ以上の共役体および/または末端基を任意に含むオリゴヌクレオチドを含む。ある特定の実施形態において、オリゴマー化合物は、オリゴヌクレオチドからなる。ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、1個以上の化学修飾を含む。そのような化学修飾は、1個以上のヌクレオシドへの修飾（糖部分および/または核酸塩基への修飾を含む）および/または1個以上のヌクレオシド間結合への修飾を含む。

#### 【0110】

#### ある特定の糖部分

ある特定の実施形態において、本発明のオリゴマー化合物は、修飾糖部分を含む1個以上の修飾ヌクレオシドを含む。1個以上の糖修飾ヌクレオシドを含むそのようなオリゴマー化合物は、天然に存在する糖部分を含むヌクレオシドのみを含むオリゴマー化合物と比較して、ヌクレアーゼ安定性の強化または標的核酸との結合親和性の増大等の望ましい特性を有し得る。ある特定の実施形態において、修飾糖部分は、置換糖部分である。ある特定の実施形態において、修飾糖部分は、二環式または三環式糖部分である。ある特定の実施形態において、修飾糖部分は、糖代理物である。そのような糖代理物は、置換糖部分の置換に対応する1つ以上の置換を含み得る。

20

#### 【0111】

ある特定の実施形態において、修飾糖部分は、2'位および/または5'位の置換基を含むが、これらに限定されない1個以上の置換基を含む置換糖部分である。2'位に好適な糖置換基の例として、2'-F、2'-OCH<sub>3</sub>（「OMe」または「O-メチル」）、および2'-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>（「MOE」）が挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態において、2'位の糖置換基は、アリル、アミノ、アジド、チオ、O-アリル、O-C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキル、O-C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>置換アルキル、O-C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルコキシ、O-C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>置換アルコキシ、OCF<sub>3</sub>、O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>、O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)、およびO-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)から選択され、式中、R<sub>m</sub>およびR<sub>n</sub>は、独立して、Hまたは置換もしくは非置換C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキルである。5'位の糖置換基の例には、5'-メチル（RまたはS）、5'-ビニル、および5'-メトキシが挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態において、置換糖は、2個以上の非架橋糖置換基、例えば、2'-F-5'-メチル糖部分を含む（さらなる5'、2'-ビス置換糖部分およびヌクレオシドについては、例えば、PCT国際出願WO2008/101157を参照のこと）。

30

40

#### 【0112】

2'-置換糖部分を含むヌクレオシドは、2'-置換ヌクレオシドと称される。ある特定の実施形態において、2'-置換ヌクレオシドは、ハロ、アリル、アミノ、アジド、O-C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルコキシ、O-C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>置換アルコキシ、SH、CN、OCN、CF<sub>3</sub>、OCF<sub>3</sub>、O-アルキル、S-アルキル、N(R<sub>m</sub>)-アルキル、O-アルケニル、S-アルケニルもしくはN(R<sub>m</sub>)-アルケニル、O-アルキニル、S-アルキニル、N(R<sub>m</sub>)-アルキニル、O-アルキレニル-O-アルキル、アルキニル、アルカリル、アラルキル、O-アルカリル、O-アラルキル、O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>、O-(CH<sub>2</sub>

50

$\text{)}_2 - \text{O} - \text{N}(\text{R}_m)(\text{R}_n)$ 、または  $\text{O} - \text{CH}_2 - \text{C}(=\text{O}) - \text{N}(\text{R}_m)(\text{R}_n)$  から選択される 2' - 置換基を含み、式中、各  $\text{R}_m$  および  $\text{R}_n$  は、独立して、H、アミノ保護基、または置換もしくは非置換  $\text{C}_1 \sim \text{C}_{10}$  アルキルである。これらの 2' - 置換基は、ヒドロキシル、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、ベンジル、フェニル、ニトロ( $\text{NO}_2$ )、チオール、チオアルコキシ(S-アルキル)、ハロゲン、アルキル、アリール、アルケニル、およびアルキニルから独立して選択される 1 個以上の置換基とさらに置換され得る。

#### 【0113】

ある特定の実施形態において、2' - 置換ヌクレオシドは、F、 $\text{NH}_2$ 、 $\text{N}_3$ 、 $\text{OCF}_3$ 、 $\text{O} - \text{CH}_3$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$ 、 $\text{CH}_2 - \text{CH} = \text{CH}_2$ 、 $\text{O} - \text{CH}_2 - \text{CH} = \text{CH}_2$ 、 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{SCH}_3$ 、 $\text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - \text{N}(\text{R}_m)(\text{R}_n)$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、および N - 置換アセトアミド( $\text{O} - \text{CH}_2 - \text{C}(=\text{O}) - \text{N}(\text{R}_m)(\text{R}_n)$ ) から選択される 2' - 置換基を含み、式中、各  $\text{R}_m$  および  $\text{R}_n$  は、独立して、H、アミノ保護基、または置換もしくは非置換  $\text{C}_1 \sim \text{C}_{10}$  アルキルである。

10

#### 【0114】

ある特定の実施形態において、2' - 置換ヌクレオシドは、F、 $\text{OCF}_3$ 、 $\text{O} - \text{CH}_3$ 、 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{SCH}_3$ 、 $\text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - \text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、および  $\text{O} - \text{CH}_2 - \text{C}(=\text{O}) - \text{N}(\text{H})\text{CH}_3$  から選択される 2' - 置換基を含む、糖部分を含む。

20

#### 【0115】

ある特定の実施形態において、2' - 置換ヌクレオシドは、F、 $\text{O} - \text{CH}_3$ 、および  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$  から選択される 2' - 置換基を含む、糖部分を含む。

#### 【0116】

ある特定の修飾糖部分は、第 2 の環を形成して二環式糖部分をもたらす架橋糖置換基を含む。ある特定のそのような実施形態において、二環式糖部分は、4' フラノース環原子と 2' フラノース環原子との間に橋を含む。そのような 4' から 2' の糖置換基の例には、 $-\text{[C}(\text{R}_a)(\text{R}_b)\text{]}_n-$ 、 $-\text{[C}(\text{R}_a)(\text{R}_b)\text{]}_n-\text{O}-$ 、 $-\text{C}(\text{R}_a\text{R}_b)-\text{N}(\text{R})-\text{O}-$ 、または  $-\text{C}(\text{R}_a\text{R}_b)-\text{O}-\text{N}(\text{R})-$ ；4' -  $\text{CH}_2 - 2'$ 、4' -  $(\text{CH}_2)_2 - 2'$ 、4' -  $(\text{CH}_2)_3 - 2'$ 、4' -  $(\text{CH}_2) - \text{O} - 2'$  (LNA)；4' -  $(\text{CH}_2) - \text{S} - 2'$ ；4' -  $(\text{CH}_2)_2 - \text{O} - 2'$  (ENA)；4' -  $\text{CH}(\text{CH}_3) - \text{O} - 2'$  (cet)；および 4' -  $\text{CH}(\text{CH}_2\text{OCH}_3) - \text{O} - 2'$ ；ならびにこれらの類似体（例えば、2008 年 7 月 15 日に発行された米国特許第 7,399,845 号を参照のこと）；4' -  $\text{C}(\text{CH}_3)(\text{CH}_3) - \text{O} - 2'$  およびその類似体（例えば、2009 年 1 月 8 日に公開された WO 2009/006478 を参照のこと）；4' -  $\text{CH}_2 - \text{N}(\text{OCH}_3) - 2'$  およびその類似体（例えば、2008 年 12 月 11 日に公開された WO 2008/150729 を参照のこと）；4' -  $\text{CH}_2 - \text{O} - \text{N}(\text{CH}_3) - 2'$ （例えば、2004 年 9 月 2 日に公開された US 2004/0171570 を参照のこと）；4' -  $\text{CH}_2 - \text{O} - \text{N}(\text{R}) - 2'$ ；ならびに 4' -  $\text{CH}_2 - \text{N}(\text{R}) - \text{O} - 2'$ （式中、各 R が、独立して、H、保護基、または  $\text{C}_1 \sim \text{C}_{12}$  アルキルである）；4' -  $\text{CH}_2 - \text{N}(\text{R}) - \text{O} - 2'$ （式中、R が、H、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_{12}$  アルキル、または保護基である）（2008 年 9 月 23 日に発行された米国特許第 7,427,672 号を参照のこと）；4' -  $\text{CH}_2 - \text{C}(\text{H})(\text{CH}_3) - 2'$ （例えば、Chattopadhyaya, et al., J. Org. Chem., 2009, 74, 118-134）；ならびに 4' -  $\text{CH}_2 - \text{C}(=\text{CH}_2) - 2'$  およびその類似体（2008 年 12 月 8 日に公開された PCT 国際出願 WO 2008/154401 を参照のこと）が挙げられるが、これらに限定されない。

30

40

#### 【0117】

ある特定の実施形態において、そのような 4' から 2' の橋は、独立して、 $-\text{[C}(\text{R}_a)(\text{R}_b)\text{]}_n-$ 、 $-\text{C}(\text{R}_a) = \text{C}(\text{R}_b)-$ 、 $-\text{C}(\text{R}_a) = \text{N}-$ 、 $-\text{C}(=\text{NR})$

50



$a$  ) -、 - C ( = O ) -、 - C ( = S ) -、 - O -、 - Si (  $R_a$  )<sub>2</sub> -、 - S ( = O )  
 $x$  -、および - N (  $R_a$  ) - から独立して選択される 1 ~ 4 の結合基を含み、  
 式中、

$x$  は、0、1、または 2 であり、

$n$  は、1、2、3、または 4 であり、

各  $R_a$  および  $R_b$  は、独立して、H、保護基、ヒドロキシル、 $C_1 \sim C_{12}$  アルキル、  
 置換  $C_1 \sim C_{12}$  アルキル、 $C_2 \sim C_{12}$  アルケニル、置換  $C_2 \sim C_{12}$  アルケニル、 $C_2 \sim C_{12}$  アルキニル、置換  $C_2 \sim C_{12}$  アルキニル、 $C_5 \sim C_{20}$  アリール、置換  $C_5 \sim C_{20}$  アリール、複素環式ラジカル、置換複素環式ラジカル、ヘテロアリール、置換ヘ  
 テロアリール、 $C_5 \sim C_7$  脂環式ラジカル、置換  $C_5 \sim C_7$  脂環式ラジカル、ハロゲン、  
 OJ<sub>1</sub>、NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>、SJ<sub>1</sub>、N<sub>3</sub>、COOJ<sub>1</sub>、アシル ( C ( = O ) - H )、置換アシル、CN、スルホニル ( S ( = O )<sub>2</sub> - J<sub>1</sub> )、またはスルホキシル ( S ( = O ) - J<sub>1</sub> )  
 ) であり、

10

各 J<sub>1</sub> および J<sub>2</sub> は、独立して、H、 $C_1 \sim C_{12}$  アルキル、置換  $C_1 \sim C_{12}$  アルキ  
 ル、 $C_2 \sim C_{12}$  アルケニル、置換  $C_2 \sim C_{12}$  アルケニル、 $C_2 \sim C_{12}$  アルキニル、  
 置換  $C_2 \sim C_{12}$  アルキニル、 $C_5 \sim C_{20}$  アリール、置換  $C_5 \sim C_{20}$  アリール、アシル ( C ( = O ) - H )、置換アシル、複素環式ラジカル、置換複素環式ラジカル、 $C_1 \sim C_{12}$  アミノアルキル、置換  $C_1 \sim C_{12}$  アミノアルキル、または保護基である。

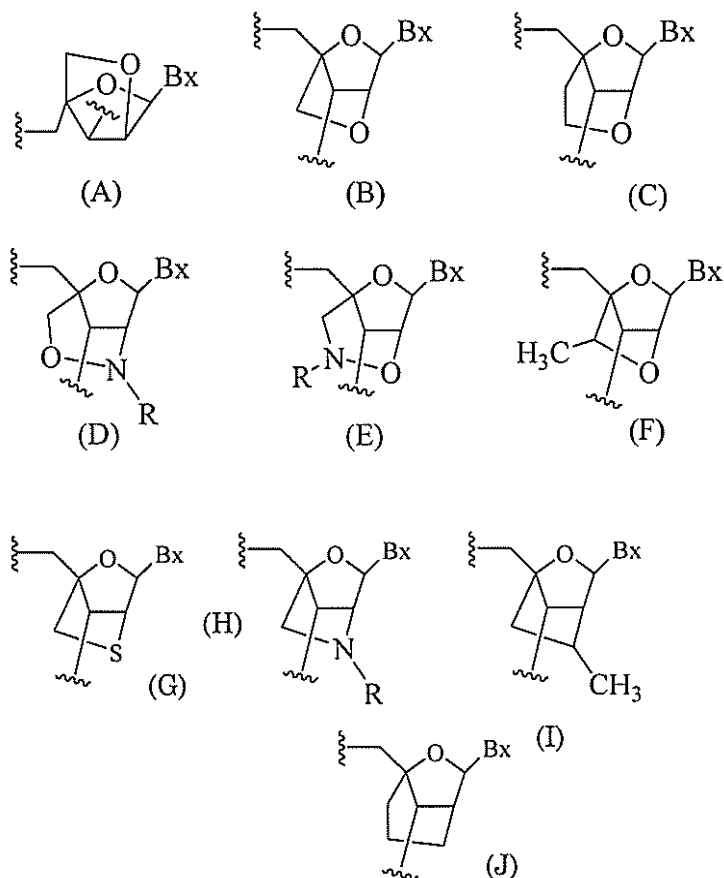
【 0 1 1 8 】

二環式糖部分を含むヌクレオシドは、二環式ヌクレオシドまたは BNA と称される。二  
 環式ヌクレオシドには、以下に示される、( A ) - L - メチレンオキシ ( 4 ' - CH<sub>2</sub>  
 - O - 2 ' ) BNA、( B ) - D - メチレンオキシ ( 4 ' - CH<sub>2</sub> - O - 2 ' ) BNA  
 ( ロックド核酸または LNA と称される )、( C ) エチレンオキシ ( 4 ' - ( CH<sub>2</sub> )  
<sub>2</sub> - O - 2 ' ) BNA、( D ) アミノオキシ ( 4 ' - CH<sub>2</sub> - O - N ( R ) - 2 ' ) BN  
 A、( E ) オキシアミノ ( 4 ' - CH<sub>2</sub> - N ( R ) - O - 2 ' ) BNA、( F ) メチル (   
 メチレンオキシ ) ( 4 ' - CH ( CH<sub>3</sub> ) - O - 2 ' ) BNA ( 拘束エチルまたは cEt  
 と称される )、( G ) メチレン - チオ ( 4 ' - CH<sub>2</sub> - S - 2 ' ) BNA、( H ) メチ  
 レン - アミノ ( 4 ' - CH<sub>2</sub> - N ( R ) - 2 ' ) BNA、( I ) メチル炭素環式 ( 4 ' -  
 CH<sub>2</sub> - CH ( CH<sub>3</sub> ) - 2 ' ) BNA、および ( J ) プロピレン炭素環式 ( 4 ' - ( C  
 H<sub>2</sub> )<sub>3</sub> - 2 ' ) BNA が含まれるが、これらに限定されず、

20

30

## 【化 1】



10

20

式中、Bxは、核酸塩基部分であり、Rは、独立して、H、保護基、またはC<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub>アルキルである。

## 【0119】

さらなる二環式糖部分は、当技術分野で既知であり、例えば、Singh et al., Chem. Commun., 1998, 4, 455-456、Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630、Wahlestedt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2000, 97, 5633-5638、Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222、Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039、Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc., 129(26)8362-8379 (Jul. 4, 2007)、Elayadi et al., Curr. Opinion Inven. Drugs, 2001, 2, 558-561、Braasch et al., Chem. Biol., 2001, 8, 1-7、Orum et al., Curr. Opinion Mol. Ther., 2001, 3, 239-243、米国特許第7,053,207号、同第6,268,490号、同第6,770,748号、同第6,794,499号、同第7,034,133号、同第6,525,191号、同第6,670,461号、および同第7,399,845号、WO2004/106356、WO1994/14226、WO2005/021570、およびWO2007/134181、米国特許公開第US2004/0171570号、同第US2007/0287831号、および同第US2008/0039618号、米国特許第12/129,154号、同第60/989,574号、同第61/026,995号、同第61/026,998号、同第61/056,564号、同第61/086,231号、同第61/097,787号、および同第61/099,844号、ならびにPCT国際出願第PCT/US2008/064591号、同第PCT/US2008/066154号、お

30

40

50

よび同第 P C T / U S 2 0 0 8 / 0 6 8 9 2 2 号である。

【 0 1 2 0 】

ある特定の実施形態において、二環式糖部分およびそのような二環式糖部分を組み込むヌクレオシドは、異性体配置によってさらに定義される。例えば、4' - 2' メチレン - オキシ橋を含むヌクレオシドは、 - L 配置または - D 配置であり得る。以前に、 - L - メチレンオキシ ( 4' - C H <sub>2</sub> - O - 2' ) 二環式ヌクレオシドが、アンチセンス活性を示すアンチセンスオリゴヌクレオチドに組み込まれている ( F r i e d e n e t a l . , N u c l e i c A c i d s R e s e a r c h , 2 0 0 3 , 2 1 , 6 3 6 5 - 6 3 7 2 ) 。

【 0 1 2 1 】

ある特定の実施形態において、置換糖部分は、1 個以上の非架橋糖置換基および 1 個以上の架橋糖置換基 ( 例えば、5' - 置換および 4' - 2' 架橋糖 ) を含む。 ( 2 0 0 7 年 1 1 月 2 2 日に公開された P C T 国際出願 W O 2 0 0 7 / 1 3 4 1 8 1 ( L N A が例えば 5' - メチルまたは 5' - ビニル基で置換されている ) を参照のこと ) 。

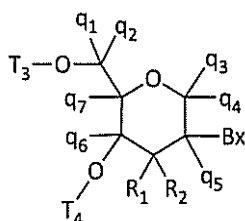
【 0 1 2 2 】

ある特定の実施形態において、修飾糖部分は、糖代理物である。ある特定のそのような実施形態において、天然に存在する糖の酸素原子は、例えば、硫黄、炭素、または窒素原子で置換される。ある特定のそのような実施形態において、そのような修飾糖部分は、上述の架橋および / または非架橋置換基も含む。例えば、ある特定の糖代理物は、4' - 硫黄原子ならびに 2' 位 ( 例えば、2 0 0 5 年 6 月 1 6 日に公開された米国特許出願 U S 2 0 0 5 / 0 1 3 0 9 2 3 を参照のこと ) および / または 5' 位での置換を含む。さらなる例として、4' - 2' 橋を有する炭素環式二環式ヌクレオシドが記載されている ( 例えば、F r e i e r e t a l . , N u c l e i c A c i d s R e s e a r c h , 1 9 9 7 , 2 5 ( 2 2 ) , 4 4 2 9 - 4 4 4 3 、および A l b a e k e t a l . , J . O r g . C h e m . , 2 0 0 6 , 7 1 , 7 7 3 1 - 7 7 4 0 を参照のこと ) 。

【 0 1 2 3 】

ある特定の実施形態において、糖代理物は、5 個の原子以外を有する環を含む。例として、ある特定の実施形態において、糖代理物は、6 員テトラヒドロピランを含む。そのようなテトラヒドロピランは、さらに修飾または置換され得る。そのような修飾テトラヒドロピランを含むヌクレオシドには、ヘキシトール核酸 ( H N A ) 、アニトール核酸 ( A N A ) 、マニトール核酸 ( M N A ) ( L e u m a n n , C J . B i o o r g . & M e d . C h e m . ( 2 0 0 2 ) 1 0 : 8 4 1 - 8 5 4 を参照のこと ) 、フルオロ H N A ( F - H N A ) 、および以下の式 V I I を有する化合物が含まれるが、これらに限定されず、

【 化 2 】



V I I

式中、独立して、式 V I I の前記少なくとも 1 個のテトラヒドロピランヌクレオシド類似体の各々について、

B x は、核酸塩基部分であり、

T <sub>3</sub> および T <sub>4</sub> は各々、独立して、テトラヒドロピランヌクレオシド類似体をアンチセンス化合物に結合させるヌクレオシド間結合基であるか、または T <sub>3</sub> および T <sub>4</sub> のうちの

一方は、テトラヒドロピランヌクレオシド類似体をアンチセンス化合物に結合させるヌクレオシド間結合基であり、 $T_3$  および  $T_4$  のうちの他方は、H、ヒドロキシル保護基、結合共役基、または5'もしくは3'-末端基であり、

$q_1$ 、 $q_2$ 、 $q_3$ 、 $q_4$ 、 $q_5$ 、 $q_6$ 、および $q_7$ は各々、独立して、H、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、置換 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_2 \sim C_6$ アルケニル、置換 $C_2 \sim C_6$ アルケニル、 $C_2 \sim C_6$ アルキニル、または置換 $C_2 \sim C_6$ アルキニルであり、

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

10

#### 【0124】

ある特定の実施形態において、式VIIの修飾THPヌクレオシドが提供され、式中、 $q_1$ 、 $q_2$ 、 $q_3$ 、 $q_4$ 、 $q_5$ 、 $q_6$ 、および $q_7$ が、各々Hである。ある特定の実施形態において、 $q_1$ 、 $q_2$ 、 $q_3$ 、 $q_4$ 、 $q_5$ 、 $q_6$ 、および $q_7$ のうちの少なくとも1つは、H以外である。ある特定の実施形態において、 $q_1$ 、 $q_2$ 、 $q_3$ 、 $q_4$ 、 $q_5$ 、 $q_6$ 、および $q_7$ のうちの少なくとも1つは、メチルである。ある特定の実施形態において、式VIIのTHPヌクレオシドが提供され、式中、 $R_1$  および  $R_2$  のうちの1方がFである。ある特定の実施形態において、 $R_1$  がフルオロであり、 $R_2$  がHであり、 $R_1$  がメトキシであり、 $R_2$  がHであり、 $R_1$  がメトキシエトキシであり、 $R_2$  がHである。

#### 【0125】

20

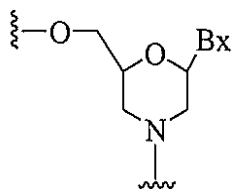
ヌクレオシドを修飾するために用いられ得る多くの他の二環式および三環式糖ならびに糖代理物環系が当技術分野で既知である（例えば、総説：Leumann, J. C, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2002, 10, 841-854を参照のこと）。

#### 【0126】

ある特定の実施形態において、糖代理物は、5個を超える原子および1個を超えるヘテロ原子を有する環を含む。例えば、モルフォリノ糖部分を含むヌクレオシドおよびオリゴマー化合物におけるそれらの使用が報告されている（例えば、Braasch et al., Biochemistry, 2002, 41, 4503-4510、ならびに米国特許5,698,685、同5,166,315、同5,185,444、および同5,034,506を参照のこと）。例えば、ある特定の実施形態において、糖代理物は、モルフォリノを含む。

30

#### 【化3】



40

ある特定の実施形態において、モルフォリノは、例えば、上述のモルフォリノ構造由来の様々な置換基を付加または変更することによって修飾され得る。そのような糖代理物は、本明細書において「修飾モルフォリノ」と称される。

#### 【0127】

2'-F-5'-メチル置換ヌクレオシド（他の開示された5', 2'-ビス置換ヌクレオシドについては、2008年8月21日に公開されたPCT国際出願WO2008/101157を参照のこと）、ならびにリボシル環酸素原子のSとの置換および2'位でのさらなる置換（2005年6月16日に公開された米国特許出願US2005-0130923を参照のこと）、またはあるいは二環式核酸の5'-置換（4'-CH<sub>2</sub>-O-2'二環式ヌクレオシドが5'位で5'-メチルまたは5'-ビニル基でさらに置換され

50

る、2007年11月22日に公開されたPCT国際出願WO2007/134181を参照のこと)等であるが、これらに限定されない修飾の組み合わせも提供される。炭素環式二環式ヌクレオシドのオリゴマー化および生化学的研究に加えて、それらの合成および調製も記載されている(例えば、Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc., 2007, 129(26), 8362-8379を参照のこと)。

#### 【0128】

ある特定の核酸塩基

ある特定の実施形態において、本発明のヌクレオシドは、1つ以上の非修飾核酸塩基を含む。ある特定の実施形態において、本発明のヌクレオシドは、1つ以上の修飾核酸塩基を含む。

#### 【0129】

ある特定の実施形態において、修飾核酸塩基は、本明細書で定義されるユニバーサル塩基、疎水性塩基、乱交雑塩基、サイズ拡大塩基、およびフッ素化塩基から選択される。5-置換ピリミジン、6-アザピリミジン、ならびにN-2、N-6、およびO-6置換プリンには、本明細書で定義される、2-アミノプロピルアデニン、5-プロピニルウラシル；5-プロピニルシトシン；5-ヒドロキシメチルシトシン、キサンチン、ヒポキサンチン、2-アミノアデニン、6-メチルならびにアデニンおよびグアニンの他のアルキル誘導体、2-プロピルならびにアデニンおよびグアニンの他のアルキル誘導体、2-チオウラシル、2-チオチミンおよび2-チオシトシン、5-ハロウラシルおよびシトシン、5-プロピニル(-C≡C-CH<sub>3</sub>)ウラシルならびにシトシンおよびピリミジン塩基の他のアルキニル誘導体、6-アゾウラシル、シトシンおよびチミン、5-ウラシル(シュードウラシル)、4-チオウラシル、8-ハロ、8-アミノ、8-チオール、8-チオアルキル、8-ヒドロキシルならびに他の8-置換アデニンおよびグアニン、5-ハロ、特に、5-プロモ、5-トリフルオロメチルならびに他の5-置換ウラシルおよびシトシン、7-メチルグアニンおよび7-メチルアデニン、2-F-アデニン、2-アミノ-アデニン、8-アザグアニンおよび8-アザアデニン、7-デアザグアニンおよび7-デアザアデニン、3-デアザグアニンおよび3-デアザアデニン、ユニバーサル塩基、疎水性塩基、乱交雑塩基、サイズ拡大塩基、およびフッ素化塩基が含まれる。さらに、修飾核酸塩基には、三環式ピリミジン、例えば、フェノキサジンシチジン([5,4-b][1,4]ベンゾオキサジン-2(3H)-オン)、フェノチアジンシチジン(1H-ピリミド[5,4-b][1,4]ベンゾチアジン-2(3H)-オン)、G-クランプ、例えば、置換フェノキサジンシチジン(例えば、9-(2-アミノエトキシ)-H-ピリミド[5,4-b][1,4]ベンゾオキサジン-2(3H)-オン)、カルバゾールシチジン(2H-ピリミド[4,5-b]インドール-2-オン)、ピリドインドールシチジン(H-ピリド[3',2':4,5]ピロロ[2,3-d]ピリミジン-2-オン)が含まれる。修飾核酸塩基には、プリンまたはピリミジン塩基が、他の複素環、例えば、7-デアザ-アデニン、7-デアザグアニン、2-アミノピリジン、および2-ピリドンに置換される塩基も含まれ得る。さらに、核酸塩基には、米国特許第3,687,808号に開示される塩基、The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering, Kroschwitz, J. I., Ed., John Wiley & Sons, 1990, 858-859に開示される塩基、Englisch et al., Angewandte Chemie, International Edition, 1991, 30, 613によって開示される塩基、およびSanghvi, Y. S., Chapter 15, Antisense Research and Applications, Crooke, S. T. and Lebleu, B., Eds., CRC Press, 1993, 273-288によって開示される塩基が含まれる。

#### 【0130】

上述の修飾核酸塩基ならびに他の修飾核酸塩基のある特定の調製を教示する代表的な米国特許には、米国特許第3,687,808号、同第4,845,205号、同第5,1

10

20

30

40

50

30, 302号、同第5, 134, 066号、同第5, 175, 273号、同第5, 367, 066号、同第5, 432, 272号、同第5, 457, 187号、同第5, 459, 255号、同第5, 484, 908号、同第5, 502, 177号、同第5, 525, 711号、同第5, 552, 540号、同第5, 587, 469号、同第5, 594, 121号、同第5, 596, 091号、同第5, 614, 617号、同第5, 645, 985号、同第5, 681, 941号、同第5, 750, 692号、同第5, 763, 588号、同第5, 830, 653号、および同第6, 005, 096号が含まれるが、これらに限定されず、これらのある特定の特許は、本出願と共同所有されており、これらの各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

#### 【0131】

ある特定のヌクレオシド間結合

ある特定の実施形態において、本発明は、連結したヌクレオシドを含むオリゴマー化合物を提供する。そのような実施形態において、ヌクレオシドは、任意のヌクレオシド間結合を用いて一緒に連結され得る。ヌクレオシド間結合基の2つの主なクラスは、リン原子の存在または不在によって定義される。代表的なリン含有ヌクレオシド間結合は、ホスホジエステル ( $P=O$ )、ホスホトリエステル、メチルホスホネート、ホスホラミデート、およびホスホロチオエート ( $P=S$ ) を含むが、これらに限定されない。代表的な非リン含有ヌクレオシド間結合基は、メチレンメチルイミノ ( $-CH_2-N(CH_3)-O-CH_2-$ )、チオジエステル ( $-O-C(O)-S-$ )、チオノカルバメート ( $-O-C(O)(NH)-S-$ )、シロキサン ( $-O-Si(H)_2-O-$ )、および  $N, N'$ -ジメチルヒドラジン ( $-CH_2-N(CH_3)-N(CH_3)-$ ) を含むが、これらに限定されない。修飾結合は、天然ホスホジエステル結合と比較して、オリゴマー化合物のヌクレアーゼ耐性を変化させる、典型的には、増加させるために用いられ得る。ある特定の実施形態において、キラル原子を有するヌクレオシド間結合は、ラセミ混合物として、または別個の鏡像異性体として調製され得る。代表的なキラル結合は、アルキルホスホネートおよびホスホロチオエートを含むが、これらに限定されない。リン含有および非リン含有ヌクレオシド間結合の調製方法は、当業者に周知である。

#### 【0132】

本明細書に記載のオリゴヌクレオチドは、1つ以上の不斉中心を含有し、それ故に、絶対立体化学の点で、(R)もしくは(S)、糖アノマー等の場合、もしくは、またはアミノ酸等の場合、(D)もしくは(L)と定義され得る、鏡像異性体、ジアステレオマー、および他の立体異性体配置を生じさせる。本明細書に提供されるアンチセンス化合物には、すべてのそのような考えられる異性体、ならびにそれらのラセミ形態および光学的に純粋な形態が含まれる。

#### 【0133】

中性ヌクレオシド間結合には、ホスホトリエステル、メチルホスホネート、MMI ( $3'-CH_2-N(CH_3)-O-5'$ )、アミド-3 ( $3'-CH_2-C(=O)-N(H)-5'$ )、アミド-4 ( $(3'-CH_2-N(H)-C(=O)-5')$ )、ホルムアセタール ( $3'-O-CH_2-O-5'$ )、およびチオホルムアセタール ( $3'-S-CH_2-O-5'$ ) が含まれるが、これらに限定されない。さらに、中性ヌクレオシド間結合には、シロキサン (ジアルキルシロキサン)、カルボン酸エステル、カルボキサミド、硫化物、スルホン酸エステル、およびアミドを含む非イオン性結合が含まれる (例えば、Carbohydrate Modifications in Antisense Research; Y. S. Sanghvi and P. D. Cook, Eds., ACS Symposium Series 580; Chapters 3 and 4, 40-65を参照のこと)。さらに、中性ヌクレオシド間結合には、混合したN、O、S、および  $CH_2$  成分部分を含む非イオン性結合が含まれる。

#### 【0134】

ある特定のモチーフ

ある特定の実施形態において、本発明は、オリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物

10

20

30

40

50

を提供する。ある特定の実施形態において、そのようなオリゴヌクレオチドは、1つ以上の化学修飾を含む。ある特定の実施形態において、化学修飾オリゴヌクレオチドは、1つ以上の修飾ヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態において、化学修飾オリゴヌクレオチドは、修飾糖を含む1つ以上の修飾ヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態において、化学修飾オリゴヌクレオチドは、1つ以上の修飾核酸塩基を含む1つ以上の修飾ヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態において、化学修飾オリゴヌクレオチドは、1つ以上の修飾ヌクレオシド間結合を含む。ある特定の実施形態において、化学修飾（糖修飾、核酸塩基修飾、および/または結合修飾）は、パターンまたはモチーフを定義する。ある特定の実施形態において、糖部分、ヌクレオシド間結合、および核酸塩基の化学修飾のパターンは、各々、互いに独立している。このため、オリゴヌクレオチドは、その糖修飾モチーフ、ヌクレオシド間結合モチーフ、および/または核酸塩基修飾モチーフ（本明細書で使用されるとき、核酸塩基修飾モチーフとは、核酸塩基の配列から独立している核酸塩基への化学修飾を説明する）によって説明することができる。

10

#### 【0135】

##### ある特定の糖モチーフ

ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、定義されたパターンまたは糖修飾モチーフでオリゴヌクレオチドまたはその領域に沿って配置された1種類以上の修飾糖部分および/または天然に存在する糖部分を含む。そのようなモチーフは、本明細書で論じられる糖修飾および/または他の既知の糖修飾のうちのいずれかを含み得る。

#### 【0136】

20

ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、2個の外部領域または「ウィング」および内部領域または「ギャップ」を含むギャップマー糖修飾モチーフを有する領域を含むか、またはそれからなる。ギャップマーモチーフの3個の領域（5'-ウィング、ギャップ、および3'-ウィング）は、ヌクレオシドの連続した配列を形成し、これらのウィングの各々のヌクレオシドの糖部分の少なくとも一部は、このギャップのヌクレオシドの糖部分の少なくとも一部とは異なる。具体的には、少なくとも、ギャップに最も近い（5'-ウィングの最も3'側のヌクレオシドおよび3'-ウィングの最も5'側のヌクレオシド）各ウィングのヌクレオシドの糖部分が、隣接するギャップヌクレオシドの糖部分とは異なり、それ故に、ウィングとギャップとの間の境界を定義する。ある特定の実施形態において、ギャップ内の糖部分は、互いに同一である。ある特定の実施形態において、ギャップは、ギャップの1個以上の他のヌクレオシドの糖部分とは異なる糖部分を有する1個以上のヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態において、2個のウィングの糖修飾モチーフは、互いに同一である（対称性ギャップマー）。ある特定の実施形態において、5'-ウィングの糖修飾モチーフは、3'-ウィングの糖修飾モチーフとは異なる（不斉ギャップマー）。ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、ウィングに2'-MOE修飾ヌクレオシドを、およびギャップに2'-F修飾ヌクレオシドを含む。

30

#### 【0137】

ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは完全に修飾される。ある特定のそのような実施形態において、オリゴヌクレオチドは、均一に修飾される。ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、均一な2'-MOEである。ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、均一な2'-Fである。ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、均一なモルフォリノである。ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、均一なBNAである。ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、均一なLNAである。ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、均一なcEtである。

40

#### 【0138】

ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、均一な修飾領域および修飾されていないか、または異なって修飾されたさらなるヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態において、均一な修飾領域は、少なくとも5、10、15、または20ヌクレオシド長である。ある特定の実施形態において、均一な領域は、2'-MOE領域である。ある特

50

定の実施形態において、均一な領域は、2' - F 領域である。ある特定の実施形態において、均一な領域は、モルフォリノ領域である。ある特定の実施形態において、均一な領域は、BNA 領域である。ある特定の実施形態において、均一な領域は、LNA 領域である。ある特定の実施形態において、均一な領域は、cEt 領域である。

#### 【0139】

ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、4 個を超える連続した非修飾 2' - デオキシヌクレオシドを含まない。ある特定の環境において、4 個を超える連続した 2' - デオキシヌクレオシドを含むアンチセンスオリゴヌクレオチドは、RNase H を活性化し、標的 RNA の切断をもたらす。ある特定の実施形態において、そのような切断は、例えば、スプライシングの変化が所望され、標的 RNA の切断が所望されない場合、4 個を超える連続した 2' - デオキシヌクレオシドを有しないことによって回避される。

10

#### 【0140】

ある特定のヌクレオシド間結合モチーフ

ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、定義されたパターンまたは修飾ヌクレオシド間結合モチーフでオリゴヌクレオチドまたはその領域に沿って配置された修飾ヌクレオシド間結合を含む。ある特定の実施形態において、ヌクレオシド間結合は、糖修飾モチーフについて上述されるように、ギャップモチーフで配置される。そのような実施形態において、2 個のウィング領域のそれぞれのヌクレオシド間結合は、ギャップ領域のヌクレオシド間結合と異なる。ある特定の実施形態において、ウィングのヌクレオシド間結合は、ホスホジエステルであり、ギャップのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートである。糖修飾モチーフは、ギャップヌクレオシド間結合モチーフを有するそのようなオリゴヌクレオチドが、ギャップ糖修飾モチーフを有するか有しなくてもよいように、かつギャップ糖モチーフを有する場合、ウィングおよびギャップの長さが同じであってもなくてもよいように、独立して選択される。

20

#### 【0141】

ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、交互のヌクレオシド間結合モチーフを有する領域を含む。ある特定の実施形態において、本発明のオリゴヌクレオチドは、均一に修飾されたヌクレオシド間結合の領域を含む。ある特定のそのような実施形態において、オリゴヌクレオチドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって均一に連結された領域を含む。ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、ホスホロチオエートによって均一に連結される。ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合は、ホスホジエステルおよびホスホロチオエートから選択される。ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合は、ホスホジエステルおよびホスホロチオエートから選択され、少なくとも 1 個のヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートである。

30

#### 【0142】

ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも 6 個のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む。ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも 8 個のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む。ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも 10 個のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む。ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも 6 個の連続したホスホロチオエートヌクレオシド間結合の少なくとも 1 個のブロックを含む。ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも 8 個の連続したホスホロチオエートヌクレオシド間結合の少なくとも 1 個のブロックを含む。ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも 10 個の連続したホスホロチオエートヌクレオシド間結合の少なくとも 1 個のブロックを含む。ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも 1 個の 12 個の連続したホスホロチオエートヌクレオシド間結合の少なくとも 1 個のブロックを含む。ある特定のそのような実施形態において、少なくとも 1 個のそのようなブロックは、オリゴヌクレオチドの 3' 末端に位置する。ある

40

50



特定のそのような実施形態において、少なくとも1つのそのようなブロックは、オリゴヌクレオチドの3'末端の3個のヌクレオシド内に位置する。

ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドを含む化合物および組成物は、CNSに送達される。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドを含む化合物および組成物は、脳室内投与または脳室内ボラス投与を介してCNSに送達される。ある特定の実施形態において、1つ以上の修飾オリゴヌクレオチドは、核酸標的に対して高効力および高選択性を呈し得るが、脳室内投与を介してCNS内に送達されるときに、ある低度の急性毒性を有し得る。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間結合への1つ以上の修飾の導入は、脳室内投与を介するCNS送達に関連する急性毒性を改善するか、または低下させる。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチド内への1つ以上のホスホジエステルヌクレオシド間結合の導入は、脳室内投与を介するCNS送達に関連する急性毒性を改善するか、または低下させる。

10

#### 【0143】

ある特定の実施形態において、オリゴマー化合物は、以下の表から選択されるヌクレオシド間結合モチーフを有し、式中、各「N」はヌクレオシドを表し、各々の下付き文字「s」はホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表し、各々の下付き文字「o」はホスホジエステルヌクレオシド間結合を表す。

#### 【化4】

ヌクレオシド間結合モチーフ

20

$N_s N_s N_o N_s N_o N_s N_o N_s N_o N_s N_o N_s N_o N_s N_s N$
$N_s N_o N_o N_o N_s N_s N_s N_s N_s N_s N_s N_o N_o N_o N_s N_s N$

#### 【0144】

ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドへの3、4、5、6、7、8、または9個のホスホジエステルヌクレオシド間結合の包含は、脳室内投与を介するCNS送達に関連する急性毒性を改善するか、または低下させる。

#### 【0145】

30

ある特定の核酸塩基修飾モチーフ

ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、定義されたパターンまたは核酸塩基修飾モチーフでオリゴヌクレオチドまたはその領域に沿って配置された核酸塩基に対する化学修飾を含む。ある特定のそのような実施形態において、核酸塩基修飾は、ギャップモチーフで配置される。ある特定の実施形態において、核酸塩基修飾は、交互のモチーフで配置される。ある特定の実施形態において、各核酸塩基が修飾される。ある特定の実施形態において、核酸塩基のうちのいずれも化学修飾されない。

#### 【0146】

ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、修飾核酸塩基のブロックを含む。ある特定のそのような実施形態において、ブロックは、オリゴヌクレオチドの3'末端に存在する。ある特定の実施形態において、ブロックは、オリゴヌクレオチドの3'末端の3個のヌクレオチド内に存在する。ある特定のそのような実施形態において、ブロックは、オリゴヌクレオチドの5'末端に存在する。ある特定の実施形態において、ブロックは、オリゴヌクレオチドの5'末端の3個のヌクレオチド内に存在する。

40

#### 【0147】

ある特定の実施形態において、核酸塩基修飾は、オリゴヌクレオチドの特定の位置における天然塩基の機能である。例えば、ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドの各プリンまたは各ピリミジンが修飾される。ある特定の実施形態において、各アデニンが修飾される。ある特定の実施形態において、各グアニンが修飾される。ある特定の実施形態において、各チミンが修飾される。ある特定の実施形態において、各シトシンが修飾

50

される。ある特定の実施形態において、各ウラシルが修飾される。

【0148】

ある特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドのシトシン部分のうちのいくつかもしくはすべてが5 - メチルシトシン部分であるか、またはいずれも5 - メチルシトシン部分ではない。本明細書において、5 - メチルシトシンは、「修飾核酸塩基」ではない。したがって、別途示されない限り、非修飾核酸塩基は、5 - メチルを有するシトシン残基および5 - メチルを欠くシトシン残基の両方を含む。ある特定の実施形態において、すべてまたはいくつかのシトシン核酸塩基のメチル化状態が特定される。

【0149】

ある特定の全長

ある特定の実施形態において、本発明は、様々な範囲の長さのうちのいずれかのオリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物を提供する。ある特定の実施形態において、本発明は、X ~ Y 個の連結したヌクレオシドからなるオリゴマー化合物またはオリゴヌクレオチドを提供し、ここで、X は、その範囲の最小数のヌクレオシドを表し、Y は、その範囲の最大数のヌクレオシドを表す。ある特定のそのような実施形態において、X および Y は各々、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、および50から独立して選択されるが、但し、X が Y 以下であることを条件とする。例えば、ある特定の実施形態において、本発明は、8 ~ 9、8 ~ 10、8 ~ 11、8 ~ 12、8 ~ 13、8 ~ 14、8 ~ 15、8 ~ 16、8 ~ 17、8 ~ 18、8 ~ 19、8 ~ 20、8 ~ 21、8 ~ 22、8 ~ 23、8 ~ 24、8 ~ 25、8 ~ 26、8 ~ 27、8 ~ 28、8 ~ 29、8 ~ 30、9 ~ 10、9 ~ 11、9 ~ 12、9 ~ 13、9 ~ 14、9 ~ 15、9 ~ 16、9 ~ 17、9 ~ 18、9 ~ 19、9 ~ 20、9 ~ 21、9 ~ 22、9 ~ 23、9 ~ 24、9 ~ 25、9 ~ 26、9 ~ 27、9 ~ 28、9 ~ 29、9 ~ 30、10 ~ 11、10 ~ 12、10 ~ 13、10 ~ 14、10 ~ 15、10 ~ 16、10 ~ 17、10 ~ 18、10 ~ 19、10 ~ 20、10 ~ 21、10 ~ 22、10 ~ 23、10 ~ 24、10 ~ 25、10 ~ 26、10 ~ 27、10 ~ 28、10 ~ 29、10 ~ 30、11 ~ 12、11 ~ 13、11 ~ 14、11 ~ 15、11 ~ 16、11 ~ 17、11 ~ 18、11 ~ 19、11 ~ 20、11 ~ 21、11 ~ 22、11 ~ 23、11 ~ 24、11 ~ 25、11 ~ 26、11 ~ 27、11 ~ 28、11 ~ 29、11 ~ 30、12 ~ 13、12 ~ 14、12 ~ 15、12 ~ 16、12 ~ 17、12 ~ 18、12 ~ 19、12 ~ 20、12 ~ 21、12 ~ 22、12 ~ 23、12 ~ 24、12 ~ 25、12 ~ 26、12 ~ 27、12 ~ 28、12 ~ 29、12 ~ 30、13 ~ 14、13 ~ 15、13 ~ 16、13 ~ 17、13 ~ 18、13 ~ 19、13 ~ 20、13 ~ 21、13 ~ 22、13 ~ 23、13 ~ 24、13 ~ 25、13 ~ 26、13 ~ 27、13 ~ 28、13 ~ 29、13 ~ 30、14 ~ 15、14 ~ 16、14 ~ 17、14 ~ 18、14 ~ 19、14 ~ 20、14 ~ 21、14 ~ 22、14 ~ 23、14 ~ 24、14 ~ 25、14 ~ 26、14 ~ 27、14 ~ 28、14 ~ 29、14 ~ 30、15 ~ 16、15 ~ 17、15 ~ 18、15 ~ 19、15 ~ 20、15 ~ 21、15 ~ 22、15 ~ 23、15 ~ 24、15 ~ 25、15 ~ 26、15 ~ 27、15 ~ 28、15 ~ 29、15 ~ 30、16 ~ 17、16 ~ 18、16 ~ 19、16 ~ 20、16 ~ 21、16 ~ 22、16 ~ 23、16 ~ 24、16 ~ 25、16 ~ 26、16 ~ 27、16 ~ 28、16 ~ 29、16 ~ 30、17 ~ 18、17 ~ 19、17 ~ 20、17 ~ 21、17 ~ 22、17 ~ 23、17 ~ 24、17 ~ 25、17 ~ 26、17 ~ 27、17 ~ 28、17 ~ 29、17 ~ 30、18 ~ 19、18 ~ 20、18 ~ 21、18 ~ 22、18 ~ 23、18 ~ 24、18 ~ 25、18 ~ 26、18 ~ 27、18 ~ 28、18 ~ 29、18 ~ 30、19 ~ 20、19 ~ 21、19 ~ 22、19 ~ 23、19 ~ 24、19 ~ 25、19 ~ 26、19 ~ 27、19 ~ 28、19 ~ 29、19 ~ 30、20 ~ 21、20 ~ 22、20 ~ 23、20 ~ 24、20 ~ 25、20 ~ 26、20 ~ 27、20 ~ 28、20 ~ 29、20 ~ 30、21 ~ 22、21 ~

10

20

30

40

50

23、21～24、21～25、21～26、21～27、21～28、21～29、21～30、22～23、22～24、22～25、22～26、22～27、22～28、22～29、22～30、23～24、23～25、23～26、23～27、23～28、23～29、23～30、24～25、24～26、24～27、24～28、24～29、24～30、25～26、25～27、25～28、25～29、25～30、26～27、26～28、26～29、26～30、27～28、27～29、27～30、28～29、28～30、または29～30個の連結したヌクレオシドからなるオリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物を提供する。ある範囲またはある特定の数にかかわらず、オリゴマー化合物またはオリゴヌクレオチドのヌクレオシドの数が限定される実施形態において、オリゴマー化合物またはオリゴヌクレオチドは、それでもやはり、さらなる他の置換基をさらに含み得る。例えば、8～30個のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドは、31個のヌクレオシドを有するオリゴヌクレオチドを除外するが、別途示されない限り、そのようなオリゴヌクレオチドは、例えば、1個以上の共役体、末端基、または他の置換基をさらに含み得る。ある特定の実施形態において、ギャップマーオリゴヌクレオチドは、上記長さのうちのいずれかを有する。

10

#### 【0150】

当業者であれば、ある特定の長さが、ある特定のモチーフに対して不可能であり得ることを認識する。例えば、4個のヌクレオチドからなる5'-ウィング領域、少なくとも6個のヌクレオチドからなるギャップ、および3個のヌクレオチドからなる3'-ウィング領域を有するギャップマーは、13ヌクレオチド長未満の全長を有することはできない。このため、その実施形態では、長さの下限は13であり、「10～20」における10の制限は効果がないことが理解されるであろう。

20

#### 【0151】

さらに、オリゴヌクレオチドが全長範囲および特定の長さを有する領域によって説明され、かつそれらの領域の特定の長さの合計が全長範囲の上限未満である場合、オリゴヌクレオチドは、特定の領域の長さを超えてさらなるヌクレオシドを有し得るが、但し、ヌクレオシドの総数が全長範囲の上限を超えないことを条件とする。例えば、5個の連結したヌクレオシドからなる5'-ウィング、5個の連結したヌクレオシドからなる3'-ウィング、および10個の連結したヌクレオシドからなる中心ギャップ(5+5+10=20)を含む、20～25個の連結したヌクレオシドからなるオリゴヌクレオチドは、(25の全長限界に達するまでに)5'-ウィング、3'-ウィング、またはギャップの部分ではない最大5個のヌクレオシドを有することができる。そのようなさらなるヌクレオシドは、5'-ウィングの5'および/または3'-ウィングの3'であり得る。

30

#### 【0152】

ある特定のオリゴヌクレオチド

ある特定の実施形態において、本発明のオリゴヌクレオチドは、それらの糖モチーフ、ヌクレオシド間結合モチーフ、核酸塩基修飾モチーフ、および全長によって特徴付けられる。ある特定の実施形態において、そのようなパラメータは各々、互いに独立している。したがって、ギャップマー糖モチーフを有するオリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合は、修飾されても修飾されなくてもよく、糖修飾のギャップマー修飾パターンに従っても従わなくてもよい。したがって、糖ギャップマーのウィング領域内のヌクレオシド間結合は、互いに同一であるか、または異なり得、ギャップ領域のヌクレオシド間結合と同一であるか、または異なり得る。同様に、そのような糖ギャップマーオリゴヌクレオチドは、糖修飾のギャップマーパターンから独立して1個以上の修飾核酸塩基を含み得る。本明細書において、オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物の記述が1つ以上のパラメータに言及しない場合、そのパラメータは制限されない。このため、さらなる説明を伴わずに単にギャップマー糖モチーフを有するものとして記載されるオリゴマー化合物は、任意の長さのヌクレオシド間結合モチーフおよび核酸塩基修飾モチーフを有することができる。別途示されない限り、すべての化学修飾は、核酸塩基配列から独立している。

40

#### 【0153】

50

### ある特定の共役基

ある特定の実施形態において、オリゴマー化合物は、1つ以上の共役基の結合によって修飾される。概して、共役基は、薬力学、薬物動態学、安定性、結合、吸収、細胞分布、細胞取り込み、電荷、およびクリアランスを含むが、これらに限定されない、結合されるオリゴマー化合物の1つ以上の特性を修飾する。共役基は、化学分野において日常的に用いられ、直接または任意の共役体結合部分もしくは共役体結合基を介して、オリゴヌクレオチド等のオリゴマー化合物等の親化合物に結合される。共役基としては、インターカレーター、レポーター分子、ポリアミン、ポリアミド、ポリエチレングリコール、チオエーテル、ポリエーテル、コレステロール、チオコレステロール、コール酸部分、葉酸塩、脂質、リン脂質、ピオチン、フェナジン、フェナントリジン、アントラキノン、アダマンタン、アクリジン、フルオレセイン、ローダミン、クマリン、および色素が挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の共役基が以前に説明されている、例えば、コレステロール部分 (Lettinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86, 6553-6556)、コール酸 (Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4, 1053-1060)、チオエーテル、例えば、ヘキシル-S-トリチルチオール (Manoharan et al., Ann. N.Y. Acad. Sci., 1992, 660, 306-309; Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1993, 3, 2765-2770)、チオコレステロール (Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20, 533-538)、脂肪族鎖、例えば、D-デカン-ジオールもしくはウンデシル残基 (Saison-Behmooaras et al., EMBO J., 1991, 10, 1111-1118; Kabanov et al., FEBS Lett., 1990, 259, 327-330; Svinarchuk et al., Biochimie, 1993, 75, 49-54)、リン脂質、例えば、ジ-ヘキサデシル-rac-グリセロールもしくはトリエチル-アンモニウム1,2-ジ-O-ヘキサデシル-rac-グリセロ-3-H-ホスホネート (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654; Shea et al., Nucl. Acids Res., 1990, 18, 3777-3783)、ポリアミンもしくはポリエチレングリコール鎖 (Manoharan et al., Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14, 969-973)、またはアダマンタン酢酸 (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654)、バルミチル部分 (Mishra et al., Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264, 229-237)、またはオクタデシルアミンもしくはヘキシルアミノ-カルボニル-オキシコレステロール部分 (Crooke et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277, 923-937)。

### 【0154】

ある特定の実施形態において、共役基は、活性原薬、例えば、アスピリン、ワルファリン、フェニルブタゾン、イブプロフェン、スプロフェン、フェン-ブフェン、ケトプロフェン、(S)-(+) - プラノプロフェン、カルプロフェン、ダンシルサルコシン、2,3,5-トリヨード安息香酸、フルフェナム酸、フォリン酸、ベンゾサイアジアザイド、クロロチアジド、ジアゼピン、インドメタシン、バルビツレート、セファロスポリン、サルファ薬、抗糖尿病剤、抗菌剤、または抗生物質を含む。

### 【0155】

ある特定の実施形態において、共役基は、オリゴマー化合物中のオリゴヌクレオチドに直接結合される。ある特定の実施形態において、共役基は、共役体結合基によってオリゴヌクレオチドに結合される。ある特定のそのような実施形態において、当技術分野で既知のもの等の二機能性結合部分を含むが、これに限定されない共役体結合基は、本明細書に提供される化合物に従順である。共役体結合基は、化学安定化基、官能基、レポーター基

、および他の基等の共役基の、例えば、オリゴマー化合物等の親化合物の選択的部位への結合に有用である。概して、二機能性結合部分は、2個の官能基を有するヒドロカルビル部分を含む。官能基のうちの一方は、目的とする親分子または化合物へ結合するように選択され、他方は、化学官能基または共役基等の任意の選択される基に本質的に結合するように選択される。いくつかの実施形態において、共役リンカーは、エチレングリコール等の反復単位またはアミノ酸単位の鎖構造またはオリゴマーを含む。二機能性結合部分において日常的に用いられる官能基の例としては、求核基と反応するための求電子剤および求電子基と反応す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、二機能性結合部分は、アミノ、ヒドロキシル、カルボン酸、チオール、不飽和物（例えば、二重または三重結合）等を含む。

10

#### 【0156】

共役体結合部分のいくつかの非限定的な例は、ピロリジン、8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸(ADO)、スクシンイミジル4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート(SMCC)、および6-アミノヘキサン酸(AHEXまたはAHA)を含む。他の結合基は、置換 $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、置換もしくは非置換 $C_2 \sim C_{10}$ アルケニル、または置換もしくは非置換 $C_2 \sim C_{10}$ アルキニルを含むが、これらに限定されず、好ましい置換基の非限定的な一覧は、ヒドロキシル、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、ベンジル、フェニル、ニトロ、チオール、チオアルコキシ、ハロゲン、アルキル、アリール、アルケニル、およびアルキニルを含む。

#### 【0157】

共役基は、オリゴヌクレオチドの片方または両方の末端に結合され得るか(末端共役基)、および/または任意の内部位置で結合され得る。

20

#### 【0158】

ある特定の実施形態において、共役基は、オリゴマー化合物のオリゴヌクレオチドの3'末端にある。ある特定の実施形態において、共役基は、3'末端の近くにある。ある特定の実施形態において、共役体は、オリゴマー化合物の3'末端で結合されるが、1つ以上の末端基ヌクレオシドの前である。ある特定の実施形態において、共役基は、末端基内に位置される。

ある特定の実施形態において、本発明は、オリゴマー化合物を提供する。ある特定の実施形態において、オリゴマー化合物は、オリゴヌクレオチドを含む。ある特定の実施形態において、オリゴマー化合物は、オリゴヌクレオチドならびに1つ以上の共役基および/または末端基を含む。そのような共役基および/または末端基は、上で考察された化学モチーフのうちのいずれかを有するオリゴヌクレオチドに加えられる。このため、例えば、交互のヌクレオシドの領域を有するオリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物は、末端基を含み得る。

30

#### 【0159】

##### アンチセンス化合物

ある特定の実施形態において、本発明のオリゴマー化合物は、アンチセンス化合物である。そのようなアンチセンス化合物は、標的核酸にハイブリダイズすることができ、少なくとも1つのアンチセンス活性をもたらす。ある特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、1個以上の標的核酸に特異的にハイブリダイズする。ある特定の実施形態において、特異的にハイブリダイズするアンチセンス化合物は、標的核酸に対して、ハイブリダイゼーションを可能にし、かつアンチセンス活性をもたらすのに十分な相補性と、任意の非標的に対して、特異的ハイブリダイゼーションが所望される条件下(例えば、生体内または治療的使用のために生理学的条件下、かつ生体外アッセイの場合、アッセイが実行される条件下)で任意の非標的核酸配列への非特異的ハイブリダイゼーションを回避するのに不十分な相補性と、を有する領域を含む核酸塩基配列と、を有する。

40

#### 【0160】

ある特定の実施形態において、本発明は、オリゴヌクレオチドの全長にわたって標的核酸に完全に相補的なオリゴヌクレオチドを含むアンチセンス化合物を提供する。ある特定

50

の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、標的核酸に 99 % 相補的である。ある特定の  
の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、標的核酸に 95 % 相補的である。ある特定の  
の実施形態において、そのようなオリゴヌクレオチドは、標的核酸に 90 % 相補的である  
。

【0161】

ある特定の実施形態において、そのようなオリゴヌクレオチドは、標的核酸に 85 % 相  
補的である。ある特定の実施形態において、そのようなオリゴヌクレオチドは、標的核酸  
に 80 % 相補的である。ある特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、標的核酸  
に完全に相補的であり、かつオリゴヌクレオチドの全長にわたって標的核酸に少なくとも  
80 % 相補的な領域を含む。ある特定のそのような実施形態において、完全な相補性の領  
域は、6 ~ 14 核酸塩基長である。

10

【0162】

ある特定の実施形態において、アンチセンス化合物およびアンチセンスオリゴヌクレオ  
チドは、一本鎖化合物を含む。ある特定の実施形態において、アンチセンス化合物および  
アンチセンスオリゴヌクレオチドは、二本鎖化合物を含む。

【0163】

ある特定の修飾オリゴヌクレオチド

ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 31 の配列を有す  
る。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 33 の配列を有  
する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 34 の配列を  
有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 35 の配列  
を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 36 の配  
列を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 37 の  
配列を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 45  
の配列を有する。

20

【0164】

ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 72 の配列を有す  
る。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 79 の配列を有  
する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 82 の配列を  
有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 83 の配列  
を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 97 の配  
列を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 106  
の配列を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 1  
07 の配列を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番  
号 112 の配列を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配  
列番号 113 の配列を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは  
、配列番号 130 の配列を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチ  
ドは、配列番号 140 の配列を有する。

30

【0165】

ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 141 の配列を有  
する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 142 の配列  
を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 143 の  
配列を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 14  
4 の配列を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号  
145 の配列を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列  
番号 146 の配列を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、  
配列番号 147 の配列を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチド  
は、配列番号 148 の配列を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオ  
チドは、配列番号 149 の配列を有する。

40

【0166】

50

ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 150 の配列を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 151 の配列を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 152 の配列を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 153 の配列を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 157 の配列を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 158 の配列を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 160 の配列を有する。ある特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 200 の配列を有する。

#### 【0167】

神経変性障害に関連するある特定の経路および機構

ある特定の実施形態において、神経変性症候群または障害は、タウに関連する任意の神経変性症候群または障害であり得る。タウに関連する神経変性障害の非限定的な例としては、アルツハイマー病、進行性核上麻痺、拳闘家認知症、前頭側頭型認知症、染色体に関連するパーキンソン症、リティコ・ボディグ病、神経原線維変化優位性認知症、神経節腫、神経節細胞腫、髄膜血管腫症、亜急性硬化性全脳炎、鉛脳障害、結節性硬化症、ハラール・フォルデン・スパッツ病、ピック病、大脳皮質基底核神経節変性症、嗜銀顆粒病、進行性核上麻痺、大脳皮質基底核変性症、前頭側頭型認知症、または前頭側頭葉変性症を挙げることができる。いくつかの実施形態において、本発明の方法は、前頭側頭型認知症 (FTD) を修飾することを含む。他の実施形態において、本発明の方法は、アルツハイマー病 (AD) を修飾することを含む。さらに他の実施形態において、本発明の方法は、進行性核上麻痺を修飾することを含む。他の実施形態において、本発明の方法は、大脳皮質基底核神経節変性症を修飾することを含む。

#### 【0168】

ある特定の実施形態において、タウをコードする核酸のスプライシングを変更することによって神経変性症候群を修飾する組成物および方法が本明細書に記載される。タウは、複数の組織に見られるタンパク質であるが、ニューロンのアクソンに特に豊富である。タウの主な機能は、微小管と結合し、安定化させることであり、それは、有糸分裂、細胞質分裂、および小胞輸送に関与する細胞骨格の重要な構造的構成要素である。ヒトにおいては、エキソン 2、3、および 10 の選択的スプライシングによって生成される 6 個のタウのアイソフォームが存在する。タンパク質の N 末端におけるエキソン 2 および 3 のスプライシングは、0、1、または 2 個の 29 アミノ酸性ドメインの包含をもたらす。それぞれ、0N、1N、または 2N タウと名付けられる。C 末端におけるエキソン 10 の包含は、エキソン 10 によってコードされた微小管結合ドメインの包含をもたらす。タウの他の部分に 3 個の微小管結合ドメインが存在するので、このタウアイソフォーム (エキソン 10 を含む) は、4R タウと名付けられ、ここで「R」は、微小管結合ドメインの反復の数を指す。(図 1)。エキソン 10 を有しないタウは、3R タウと名付けられる。健常な対象において、3R : 4R タウの比率は、ほぼ 3R タウのみを発現する胎生組織およびおよそ同じ水準の 3R / 4R タウを発現する成人ヒト組織によって、発達的に制御される。3R / 4R タウの標準比率からの逸脱は、FTD タウオパシー等の神経変性症候群の特性である。

#### 【0169】

ある特定の実施形態において、対象の中枢神経系における 4R : 3R タウ比は、正常であるか、低いか、または高い場合がある。本明細書で使用されるとき、中枢神経系における「正常な 4R : 3R タウ比」とは、神経変性疾患に罹患していない同種およびほぼ同年齢の対象の中枢神経系における 4R : 3R タウ比と実質的に同じである中枢神経系における 4R : 3R タウ比を示す。ある特定の実施形態において、ある特定のアンチセンスオリゴヌクレオチド組成物および / または方法は、対象の中枢神経系における正常な 4R : 3R タウ比を減少させる。他の実施形態において、ある特定のアンチセンスオリゴヌクレオチド組成物および / または方法は、対象の中枢神経系における低い 4R : 3R タウ比を減

10

20

30

40

50

少させる。

【0170】

ある特定の実施形態において、ある特定のアンチセンスオリゴヌクレオチド組成物および/または方法は、対象の中枢神経系における高い4R:3Rタウ比を減少させる。ある特定の実施形態において、ある特定のアンチセンスオリゴヌクレオチド組成物および/または方法は、対象においてタウをコードする核酸のスプライシングの欠陥によって生じる高い4R:3Rタウ比を減少させる。対象においてタウをコードする核酸のスプライシングの欠陥は、例えば、タウをコードする核酸のスプライシングを変更し、高い4R:3Rタウ比をもたらす遺伝子突然変異によって生じ得る。突然変異は、新しい異常なスプライス要素を作成する置換突然変異または欠失突然変異のいずれかであり得る。タウをコードする核酸のスプライシングを変更し、高い4R:3Rタウ比をもたらし得る遺伝子突然変異の非限定的な例には、N279K、P301S、280、L284L、N296H、N296N、296N、P301S、G303V、E10+11、E10+12、E10+13、E+10+14およびE10+16、ならびにE10+19が含まれ得る。

10

【0171】

ある特定の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドの投与は、タウをコードする核酸のスプライシングを変更することによって対象の中枢神経系における4R:3Rタウ比を減少させる。

【0172】

ある特定の実施形態において、タウ転写物のエキソン10の排除を増加させることは、1つ以上のタウ関連障害を阻害する。ある特定の実施形態において、タウ関連障害は、アルツハイマー病、前頭側頭型認知症(FTD)、FTDP-17、進行性核上麻痺(PSP)、慢性外傷性脳障害(CTE)、大脳皮質基底核神経節変性症(CBD)、癲癇、Dravet症候群、拳闘家認知症、染色体に関連するパーキンソン症、リティコ・ボディグ病、神経原線維変化優位性認知症、神経節腫、神経節細胞腫、髄膜血管腫症、亜急性硬化性全脳炎、鉛脳障害、結節性硬化症、ハラーフォルデン・スパッツ病、ピック病、嗜銀顆粒病、進行性核上麻痺、大脳皮質基底核変性症、または前頭側頭葉変性症のうちのいずれかであり得る。

20

【0173】

ある特定の標的核酸および機構

30

ある特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、標的核酸に相補的である領域を含むオリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなる。ある特定の実施形態において、標的核酸は、内因性RNA分子である。ある特定の実施形態において、標的核酸は、プレmRNAである。ある特定の実施形態において、標的核酸は、タウ転写物である。ある特定の実施形態において、標的RNAは、タウプレmRNAである。

【0174】

ある特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、タウプレmRNAの領域に相補的であるある特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、4Rアイソフォームをコードするエキソンを含むタウプレmRNAの領域内に相補的である。ある特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、イントロン-エキソンスプライス接合部を含むタウプレmRNAの領域に相補的である。ある特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、エキソン10に隣接するイントロン-エキソンスプライス接合部を含むタウプレmRNAの領域に相補的である。ある特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、イントロン9とエキソン10との間のイントロン-エキソンスプライス接合部を含むタウプレmRNAの領域に相補的である。ある特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、エキソン10とイントロン10との間のイントロン-エキソンスプライス接合部を含むタウプレmRNAの領域に相補的である。ある特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、エキソン10からなるタウプレmRNAの領域内に相補的である。

40

【0175】

ある特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、エキソン10内のエキソンスプ

50



ライシングサイレンサーを含むタウプレmRNAの領域内に相補的である。ある特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、エキソン10内のエキソンスプライシングエンハンサーを含むタウプレmRNAの領域内に相補的である。

【0176】

ある特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、8～30個の連結したヌクレオシドからなり、タウ転写物の等長の標的領域に相補的である少なくとも8個の連続した核酸塩基を含む相補領域を含む核酸塩基配列を有する修飾オリゴヌクレオチドを含む。

【0177】

ある特定の実施形態において、標的領域は、配列番号1の核酸塩基121708および核酸塩基122044内にある。ある特定の実施形態において、標的領域は、配列番号1の核酸塩基121796および核酸塩基122044内にある。ある特定の実施形態において、標的領域は、配列番号1の核酸塩基121796および核酸塩基121885内にある。ある特定の実施形態において、標的領域は、配列番号1の核酸塩基121873および核酸塩基121898内にある。ある特定の実施形態において、標的領域は、配列番号1の核酸塩基121869および核酸塩基121943内にある。ある特定の実施形態において、標的領域は、配列番号1の核酸塩基122020および核酸塩基122044内にある。ある特定の実施形態において、標的領域は、配列番号1の核酸塩基121881および核酸塩基121898内にある。ある特定の実施形態において、標的領域は、配列番号1の核酸塩基121880および核酸塩基121897内にある。ある特定の実施形態において、標的領域は、配列番号1の核酸塩基121879および核酸塩基121896内にある。

【0178】

ある特定の実施形態において、標的領域は、配列番号1の核酸塩基121878および核酸塩基121895内にある。ある特定の実施形態において、標的領域は、配列番号1の核酸塩基121877および核酸塩基121894内にある。ある特定の実施形態において、標的領域は、配列番号1の核酸塩基121876および核酸塩基121893内にある。ある特定の実施形態において、標的領域は、配列番号1の核酸塩基121875および核酸塩基121892内にある。ある特定の実施形態において、標的領域は、配列番号1の核酸塩基121874および核酸塩基121891内にある。ある特定の実施形態において、標的領域は、配列番号1の核酸塩基121873および核酸塩基121890内にある。

【0179】

ある特定の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、プレmRNAのスプライシングを調節する。ある特定の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、タウプレmRNAのスプライシングを調節する。ある特定の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、タウ3R mRNAの量を増加させる。ある特定の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、タウmRNAにおけるエキソン10の排除を増加させる。ある特定の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、タウmRNAにおけるエキソン10の包含を減少させる。ある特定の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、3Rタウ mRNAの量を増加させる。ある特定の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、4Rタウ mRNAの量を減少させる。

【0180】

ある特定の実施形態において、エキソン10を除外するように、タウプレmRNAのスプライシングを変更する事が望ましい。エキソン10を除外するようにタウプレmRNAのスプライシングを変更することによって、3Rタウの発現が増加され、4Rタウの発現が減少される。ある特定の実施形態において、4Rタウの発現を減少させるように、タウプレmRNAのスプライシングを変更する事が望ましい。

【0181】

ある特定の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、タウ3R mRNA

10

20

30

40

50

Aの量を減少させる。ある特定の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、タウmRNAのエキソン10の排除を減少させる。ある特定の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、タウmRNAのエキソン10の包含を増加させる。ある特定の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、3 Rタウ mRNAの量を減少させる。ある特定の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、4 Rタウ mRNAの量を増加させる。ある特定の実施形態において、例えば、マウスまたは動物モデルにおける表現型作用を生成するために、エキソン10を含むように、タウプレmRNAのスプライシングを変更することが望ましい。

#### 【0182】

ある特定の医薬組成物

ある特定の実施形態において、本発明は、1個以上のアンチセンス化合物を含む医薬組成物を提供する。ある特定の実施形態において、そのような医薬組成物は、好適な薬剤的に許容される希釈剤または担体を含む。ある特定の実施形態において、医薬組成物は、滅菌生理食塩溶液および1個以上のアンチセンス化合物を含む。ある特定の実施形態において、そのような医薬組成物は、滅菌生理食塩溶液および1個以上のアンチセンス化合物からなる。ある特定の実施形態において、滅菌生理食塩水は、医薬品グレードの生理食塩水である。ある特定の実施形態において、医薬組成物は、1個以上のアンチセンス化合物および滅菌水を含む。ある特定の実施形態において、医薬組成物は、1個以上のアンチセンス化合物および滅菌水からなる。ある特定の実施形態において、滅菌生理食塩水は、医薬品グレードの水である。ある特定の実施形態において、医薬組成物は、1個以上のアンチセンス化合物およびリン酸緩衝生理食塩水(PBS)を含む。ある特定の実施形態において、医薬組成物は、1個以上のアンチセンス化合物および滅菌リン酸緩衝生理食塩水(PBS)からなる。ある特定の実施形態において、滅菌生理食塩水は、医薬品グレードのPBSである。

#### 【0183】

ある特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、医薬組成物または製剤を調製するために薬剤的に許容される活性および/または不活性物質と混合され得る。組成物および医薬組成物を製剤化するための方法は、投与経路、疾患の程度、または投与される用量を含むが、これらに限定されないいくつかの基準に依存する。

#### 【0184】

アンチセンス化合物を含む医薬組成物は、任意の薬剤的に許容される塩、エステル、またはそのようなエステルの塩を包含する。ある特定の実施形態において、アンチセンス化合物を含む医薬組成物は、ヒトを含む動物への投与時に、生物学的に活性な代謝物またはその残渣を(直接的または間接的に)提供することができる1個以上のオリゴヌクレオチドを含む。したがって、例えば、本開示は、アンチセンス化合物の薬剤的に許容される塩、プロドラッグ、そのようなプロドラッグの薬剤的に許容される塩、および他の生物学的等価物を対象とする。好適な薬剤的に許容される塩には、ナトリウム塩およびカリウム塩が含まれるが、これらに限定されない。

#### 【0185】

プロドラッグは、体内で内因性ヌクレアーゼによって切断されて活性アンチセンスオリゴマー化合物を形成するオリゴマー化合物の一方または両方の末端におけるさらなるヌクレオシドの組み込みを含み得る。

#### 【0186】

脂質部分は、様々な方法で核酸療法において用いられている。ある特定のそのような方法において、核酸は、カチオン性脂質と中性脂質の混合物から作られた事前形成されたりポソームまたはリポプレックスに導入される。ある特定の方法において、モノまたはポリカチオン性脂質とのDNA複合体は、中性脂質の存在なしで形成される。ある特定の実施形態において、脂質部分は、特定の細胞または組織への医薬品の分布を増加させるように選択される。ある特定の実施形態において、脂質部分は、脂肪組織への医薬品の分布を増加させるように選択される。ある特定の実施形態において、脂質部分は、筋肉組織への医

10

20

30

40

50

薬品の分布を増加させるように選択される。

【0187】

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される医薬組成物は、1個以上の修飾オリゴヌクレオチドおよび1個以上の賦形剤を含む。ある特定のそのような実施形態において、賦形剤は、水、食塩水、アルコール、ポリエチレングリコール、ゼラチン、ラクトース、アミラーゼ、ステアリン酸マグネシウム、滑石、ケイ酸、粘性パラフィン、ヒドロキシメチルセルロース、およびポリビニルピロリドンから選択される。

【0188】

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される医薬組成物は、送達系を含む。送達系の例として、リポソームおよびエマルジョンが挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の送達系は、疎水性化合物を含む医薬組成物を含むある特定の医薬組成物の調製に有用である。ある特定の実施形態において、ジメチルスルホキシド等のある特定の有機溶媒が用いられる。

10

【0189】

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される医薬組成物は、特定の組織または細胞型に本発明の1個以上の医薬品を送達するように設計された1個以上の組織特異的送達分子を含む。例えば、ある特定の実施形態において、医薬組成物は、組織特異的抗体でコーティングされたりポソームを含む。

【0190】

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される医薬組成物は、共溶媒系を含む。ある特定のそのような共溶媒系は、例えば、ベンジルアルコール、非極性界面活性剤、水混和性有機ポリマー、および水相を含む。ある特定の実施形態において、そのような共溶媒系は、疎水性化合物に用いられる。そのような共溶媒系の非限定的な例にはVPD共溶媒系があり、これは、3w/v%のベンジルアルコール、8w/v%の非極性界面活性剤ポリソルベート80（商標）、および65w/v%のポリエチレングリコール300を含む無水エタノールの溶液である。そのような共溶媒系の割合は、それらの溶解度および毒性特性を著しく変化させることなく大幅に変化し得る。さらに、共溶媒成分の同一性は変化し得、例えば、他の界面活性剤をポリソルベート80（商標）の代わりに使用してもよく、ポリエチレングリコールの画分サイズは変化し得、他の生体適合性ポリマーは、ポリエチレングリコール、例えば、ポリビニルピロリドンに取って代わり得、他の糖または多糖は、デキストロースと置き換わり得る。

20

30

【0191】

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される医薬組成物は、経口投与のために調製される。ある特定の実施形態において、医薬組成物は、口腔投与のために調製される。

【0192】

ある特定の実施形態において、医薬組成物は、注入による投与（例えば、静脈内、皮下、筋肉内等）のために調製される。ある特定のそのような実施形態において、医薬組成物は、担体を含み、水溶液、例えば、水または生理学的に相溶性の緩衝液、例えば、ハanks溶液、リンガー溶液、または生理学的生理食塩水緩衝液等の中で製剤化される。ある特定の実施形態において、他の成分（例えば、溶解に役立つか、または防腐剤の役目を果たす成分）が含まれる。ある特定の実施形態において、注入可能な懸濁液は、適切な液体担体、懸濁化剤等を用いて調製される。注入用のある特定の医薬組成物は、単位剤形で、例えば、アンプル単位で提供されるか、または多用量容器内に提供される。注入用のある特定の医薬組成物は、油性または水性ビヒクル中の懸濁液、溶液、またはエマルジョンであり、懸濁化剤、安定化剤、および/または分散剤等の製剤化剤を含有し得る。注入用の医薬組成物における使用に好適なある特定の溶媒には、親油性溶媒および脂肪油、例えば、ゴマ油、合成脂肪酸エステル、例えば、オレイン酸エチルまたはトリグリセリド、およびリポソームが含まれるが、これらに限定されない。水性注入懸濁液は、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトール、またはデキストラン等の懸濁液の粘度を増加さ

40

50

せる物質を含有し得る。任意に、そのような懸濁液は、好適な安定剤または高度に濃縮された溶液の調製を可能にする医薬品の溶解度を増加させる薬剤も含有し得る。

【0193】

ある特定の実施形態において、医薬組成物は、経粘膜投与のために調製される。ある特定のそのような実施形態において、浸透する障壁に適切な浸透剤が製剤化において用いられる。そのような浸透剤は、一般に当技術分野で既知である。

【0194】

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される医薬組成物は、治療的に効果的な量のオリゴヌクレオチドを含む。ある特定の実施形態において、治療的に効果的な量は、疾患の症状を防止するか、疾患の症状を軽減するか、もしくは疾患の症状を改善するか、または治療される対象の生存期間を延長させるのに十分な量である。治療的に効果的な量の決定は、十分に当業者の能力の範囲内である。

【0195】

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される1個以上の修飾オリゴヌクレオチドは、プロドラッグとして製剤化される。ある特定の実施形態において、生体内投与時に、プロドラッグは、オリゴヌクレオチドの生物学的に、薬剤的に、または治療的により活性な形態に化学変換される。ある特定の実施形態において、プロドラッグは、対応する活性形態よりも投与し易いため、有用である。例えば、ある特定の事例において、プロドラッグは、対応する活性形態よりも生物学的に利用可能である（例えば、経口投与によって）。ある特定の事例において、プロドラッグは、対応する活性形態と比較して、改善された溶解度を有し得る。ある特定の実施形態において、プロドラッグは、対応する活性形態よりも水溶性が低い。ある特定の事例において、そのようなプロドラッグは、水溶解度が移動性に害を及ぼす細胞膜にわたって優れた透過性を有する。ある特定の実施形態において、プロドラッグは、エステルである。ある特定のそのような実施形態において、エステルは、投与時にカルボン酸に代謝的に加水分解される。ある特定の事例において、カルボン酸含有化合物は、対応する活性形態である。ある特定の実施形態において、プロドラッグは、酸基に結合される短ペプチド（ポリアミノ酸）を含む。ある特定のそのような実施形態において、ペプチドは、投与時に切断されて、対応する活性形態を形成する。

【0196】

ある特定の実施形態において、本発明は、細胞内の標的核酸の量または活性を低減させる、組成物および方法を提供する。ある特定の実施形態において、細胞は、動物に存在する。ある特定の実施形態において、動物は、哺乳動物である。ある特定の実施形態において、動物は、齧歯動物である。ある特定の実施形態において、動物は、霊長類である。ある特定の実施形態において、動物は、非ヒト霊長類である。ある特定の実施形態において、動物は、ヒトである。

【0197】

ある特定の実施形態において、本発明は、本発明のオリゴマー化合物を含む医薬組成物を動物に投与する方法を提供する。好適な投与経路には、経口投与、直腸投与、経粘膜投与、腸内投与、経腸投与、局所投与、坐薬投与、吸入による投与、髄腔内投与、脳室内投与、腹腔内投与、鼻腔内投与、眼内投与、腫瘍内投与、ならびに非経口（例えば、静脈内、筋肉内、髄内、および皮下）投与が含まれるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態において、薬学的髄腔内薬が投与されて、全身曝露ではなく局所曝露を達成する。例えば、医薬組成物は、所望の罹患部に（例えば、目に、耳に）直接注入され得る。

【0198】

ある特定の実施形態において、医薬組成物は、少なくとも1つのタウ - 関連障害を有する動物に投与される。ある特定の実施形態において、そのような投与は、4 R アイソフォームの発現の低下をもたらす。ある特定の実施形態において、医薬組成物は、タウ - 関連障害に関連付けられる少なくとも1つの症状動物に投与される。ある特定の実施形態において、そのような投与は、少なくとも1つの症状の改善をもたらす。ある特定の実施形態において、動物への医薬組成物の投与は、動物の細胞における4 R mRNAの減少をも

たらず。ある特定の実施形態において、そのような投与は、3 R mRNA の増加をもたらす。ある特定の実施形態において、そのような投与は、4 R タンパク質の減少および3 R タンパク質の増加をもたらす。ある特定の実施形態において、3 R タンパク質は、4 R タンパク質よりも好ましい。ある特定の実施形態において、ある特定のアンチセンスオリゴヌクレオチドの投与は、1 つ以上のタウ - 関連障害の発症を遅延させる。ある特定の実施形態において、ある特定のアンチセンスオリゴヌクレオチドの投与は、発作を予防するか、または低下させる。ある特定の実施形態において、ある特定のアンチセンスオリゴヌクレオチドの投与は、CNS において4 R タンパク質の量を減少させる。ある特定の実施形態において、ある特定のアンチセンスオリゴヌクレオチドの投与は、細胞表現型を救出する。

10

## 【0199】

参照による非限定的な開示および組み込み

本明細書に記載のある特定の化合物、組成物、および方法がある特定の実施形態に従って具体的に記載されているが、以下の実施例は、本明細書に記載の化合物を例証する役目のみを果たし、それを限定するようには意図されていない。本出願に列挙される参考文献、GenBank 受入番号等の各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

## 【0200】

本出願に添付される配列表が必要に応じて各配列を「RNA」または「DNA」のいずれか一方と特定するが、実際には、それらの配列は、化学修飾の任意の組み合わせで修飾され得る。当業者であれば、修飾オリゴヌクレオチドを説明するための「RNA」または「DNA」のそのような指定が、ある特定の事例において、任意であることを容易に認識する。例えば、2' - OH 糖部分およびチミン塩基を含むヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドは、修飾糖を有するDNA (DNA の天然 2' - H の場合、2' - OH) または修飾塩基を有するRNA (RNA の天然ウラシルの場合、チミン (メチル化ウラシル)) と記載され得る。

20

## 【0201】

したがって、配列表中のものを含むが、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または修飾RNA および / またはDNA の任意の組み合わせを含有する核酸を包含するよう意図される。さらなる例であって制限するものではなく、核酸塩基配列「ATCGATCG」を有するオリゴマー化合物は、修飾または非修飾にかかわらず、RNA 塩基、例えば、配列「AUCGAUCG」を有するオリゴマー化合物、ならびに「AUCGATCG」等のいくつかのDNA 塩基およびいくつかのRNA 塩基を有するオリゴマー化合物、ならびに「AT<sup>m</sup>eCGAUCG」等の他の修飾塩基もしくは天然に存在する塩基を有するオリゴマー化合物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核酸塩基配列を有する任意のオリゴマー化合物を包含し、式中、<sup>m</sup>eC は、5 位にメチル基を含むシトシン塩基を示す。

30

ある態様において、本発明は以下であってもよい。

〔態様1〕8 ~ 30 個の連結したヌクレオシドからなり、タウ転写物の等長の標的領域に相補的である少なくとも8 個の連続した核酸塩基を含む相補領域を含む核酸塩基配列を有する修飾オリゴヌクレオチドを含む、化合物。

40

〔態様2〕前記修飾オリゴヌクレオチドの前記相補領域が、前記標的領域に100% 相補的である、態様1 に記載の化合物。

〔態様3〕前記修飾オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配列の前記相補領域が、少なくとも10 個の連続した核酸塩基を含む、態様1 または2 に記載の化合物。

〔態様4〕前記修飾オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配列の前記相補領域が、少なくとも15 個の連続した核酸塩基を含む、態様1 または2 に記載の化合物。

〔態様5〕前記修飾オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配列の前記相補領域が、少なくとも18 個の連続した核酸塩基を含む、態様1 または2 に記載の化合物。

〔態様6〕前記修飾オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配列が、前記オリゴヌクレオチド

50

の全長にわたって測定される際、前記タウ転写物の等長領域に少なくとも80%相補的である、態様1～5のいずれかに記載の化合物。

[態様7] 前記修飾オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配列が、前記オリゴヌクレオチドの全長にわたって測定される際、前記タウ転写物の等長領域に少なくとも90%相補的である、態様1～5のいずれかに記載の化合物。

[態様8] 前記修飾オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配列が、前記オリゴヌクレオチドの全長にわたって測定される際、前記タウ転写物の等長領域に100%相補的である、態様1～5のいずれかに記載の化合物。

[態様9] 前記標的領域が、前記タウ転写物のエキソン10内にある、態様1～8のいずれかに記載の化合物。

10

[態様10] 前記標的領域が、前記タウ転写物のイントロン9内にある、態様1～8のいずれかに記載の化合物。

[態様11] 前記標的領域が、前記タウ転写物のイントロン10内にある、態様1～8のいずれかに記載の化合物。

[態様12] 前記標的領域が、イントロン9の一部およびエキソン10の一部を含む、態様1～8のいずれかに記載の化合物。

[態様13] 前記標的領域が、エキソン10の一部およびイントロン10の一部を含む、態様1～8のいずれかに記載の化合物。

[態様14] 前記標的領域が、エキソン10の一部およびエキソン10の5'末端で前記イントロンの一部を含む、態様1～8のいずれかに記載の化合物。

20

[態様15] 前記標的領域が、エキソン10の一部およびエキソン10の3'末端で前記イントロンの一部を含む、態様1～8のいずれかに記載の化合物。

[態様16] 前記標的領域が、配列番号1の核酸塩基121708および核酸塩基122044内にある、態様1～15のいずれかに記載の化合物。

[態様17] 前記標的領域が、配列番号1の核酸塩基121796および核酸塩基122044内にある、態様1～9のいずれかに記載の化合物。

[態様18] 前記標的領域が、配列番号1の核酸塩基121796および核酸塩基121885内にある、態様1～9のいずれかに記載の化合物。

[態様19] 前記標的領域が、配列番号1の核酸塩基121873および核酸塩基121898内にある、態様1～9のいずれかに記載の化合物。

30

[態様20] 前記標的領域が、配列番号1の核酸塩基121869および核酸塩基121943内にある、態様1～9のいずれかに記載の化合物。

[態様21] 前記標的領域が、配列番号1の核酸塩基122020および核酸塩基122044内にある、態様1～9のいずれかに記載の化合物。

[態様22] 前記標的領域が、配列番号1の核酸塩基121881および核酸塩基121898内にある、態様1～9のいずれかに記載の化合物。

[態様23] 前記標的領域が、配列番号1の核酸塩基121880および核酸塩基121897内にある、態様1～9のいずれかに記載の化合物。

[態様24] 前記標的領域が、配列番号1の核酸塩基121879および核酸塩基121896内にある、態様1～9のいずれかに記載の化合物。

40

[態様25] 前記標的領域が、配列番号1の核酸塩基121878および核酸塩基121895内にある、態様1～9のいずれかに記載の化合物。

[態様26] 前記標的領域が、配列番号1の核酸塩基121877および核酸塩基121894内にある、態様1～9のいずれかに記載の化合物。

[態様27] 前記標的領域が、配列番号1の核酸塩基121876および核酸塩基121893内にある、態様1～9のいずれかに記載の化合物。

[態様28] 前記標的領域が、配列番号1の核酸塩基121875および核酸塩基121892内にある、態様1～9のいずれかに記載の化合物。

[態様29] 前記標的領域が、配列番号1の核酸塩基121874および核酸塩基121891内にある、態様1～9のいずれかに記載の化合物。

50

[ 態様 3 0 ] 前記標的領域が、配列番号 1 の核酸塩基 1 2 1 8 7 3 および核酸塩基 1 2 1 8 9 0 内にある、態様 1 ~ 9 のいずれかに記載の化合物。

[ 態様 3 1 ] 前記修飾オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配列が、配列番号 8 ~ 2 0 0 のうちのいずれかの核酸塩基配列を含む、態様 1 ~ 1 5 のいずれかに記載の化合物。

[ 態様 3 2 ] 前記修飾オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配列が、配列番号 8 ~ 2 0 0 のうちのいずれかの核酸塩基配列からなる、態様 1 ~ 1 5 のいずれかに記載の化合物。

[ 態様 3 3 ] 前記修飾オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配列が、配列番号 3 3、3 4、1 4 7、1 4 8、1 4 9、1 5 0、1 5 1、1 5 2、または 1 5 3 のうちのいずれかの核酸塩基配列を含む、態様 1 ~ 1 5 のいずれかに記載の化合物。

[ 態様 3 4 ] 前記修飾オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配列が、配列番号 3 3、3 4、1 4 7、1 4 8、1 4 9、1 5 0、1 5 1、1 5 2、または 1 5 3 のうちのいずれかの核酸塩基配列からなる、態様 1 ~ 1 5 のいずれかに記載の化合物。

[ 態様 3 5 ] 前記修飾オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配列が、配列番号 3 1、3 3、3 4、3 5、3 6、3 7、4 5、7 2、7 9、8 2、8 3、9 7、1 0 6、1 0 7、1 1 2、1 1 3、1 3 0、1 4 0、1 4 1、1 4 2、1 4 3、1 4 4、1 4 5、1 4 6、1 4 7、1 4 8、1 4 9、1 5 0、1 5 1、1 5 2、1 5 3、1 5 4、1 5 7、1 5 8、1 6 0、または 2 0 0 のうちのいずれかの核酸塩基配列を含む、態様 1 ~ 1 5 のいずれかに記載の化合物。

[ 態様 3 6 ] 前記修飾オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配列が、配列番号 3 1、3 3、3 4、3 5、3 6、3 7、4 5、7 2、7 9、8 2、8 3、9 7、1 0 6、1 0 7、1 1 2、1 1 3、1 3 0、1 4 0、1 4 1、1 4 2、1 4 3、1 4 4、1 4 5、1 4 6、1 4 7、1 4 8、1 4 9、1 5 0、1 5 1、1 5 2、1 5 3、1 5 4、1 5 7、1 5 8、1 6 0、または 2 0 0 のうちのいずれかの核酸塩基配列からなる、態様 1 ~ 1 5 のいずれかに記載の化合物。

[ 態様 3 7 ] 前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシドを含む、態様 1 ~ 3 6 のいずれかに記載の化合物。

[ 態様 3 8 ] 少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシドが、修飾糖部分を含む、態様 3 7 に記載の化合物。

[ 態様 3 9 ] 少なくとも 1 つの修飾糖部分が、2' - 置換糖部分である、態様 3 7 に記載の化合物。

[ 態様 4 0 ] 少なくとも 1 つの 2' - 置換糖部分の前記 2' - 置換基が、2' - OMe、2' - F、および 2' - MOE から選択される、態様 3 9 に記載の化合物。

[ 態様 4 1 ] 少なくとも 1 つの 2' - 置換糖部分の前記 2' - 置換基が、2' - MOE である、態様 3 9 に記載の化合物。

[ 態様 4 2 ] 少なくとも 1 つの修飾糖部分が、二環式糖部分である、態様 3 7 ~ 3 8 のいずれかに記載の化合物。

[ 態様 4 3 ] 少なくとも 1 つの二環式糖部分が、LNA または cEt である、態様 4 2 に記載の化合物。

[ 態様 4 4 ] 少なくとも 1 つの糖部分が、糖代理物である、態様 3 7 ~ 4 3 のいずれかに記載の化合物。

[ 態様 4 5 ] 少なくとも 1 つの糖代理物が、モルフォリノである、態様 4 4 に記載の化合物。

[ 態様 4 6 ] 少なくとも 1 つの糖代理物が、修飾モルフォリノである、態様 4 4 に記載の化合物。

[ 態様 4 7 ] 前記修飾オリゴヌクレオチドが、各々独立して修飾糖部分を含む少なくとも 5 個の修飾ヌクレオシドを含む、態様 1 ~ 4 6 のいずれかに記載の化合物。

[ 態様 4 8 ] 前記修飾オリゴヌクレオチドが、各々独立して修飾糖部分を含む少なくとも 1 0 個の修飾ヌクレオシドを含む、態様 4 7 に記載の化合物。

[ 態様 4 9 ] 前記修飾オリゴヌクレオチドが、各々独立して修飾糖部分を含む少なくとも 1 5 個の修飾ヌクレオシドを含む、態様 4 7 に記載の化合物。

10

20

30

40

50

〔態様 50〕前記修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドが、修飾ヌクレオシドであり、各々独立して、修飾糖部分を含み、各修飾ヌクレオシドの前記修飾糖部分が、各々、互いに同一である、態様 47 に記載の化合物。

〔態様 51〕前記修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドが、各々独立して修飾糖部分を含む修飾ヌクレオシドである、態様 47 に記載の化合物。

〔態様 52〕前記修飾オリゴヌクレオチドが、互いに同一である修飾糖部分を含む少なくとも 2 個の修飾ヌクレオシドを含む、態様 1 ~ 51 のいずれかに記載の化合物。

〔態様 53〕前記修飾オリゴヌクレオチドが、互いに異なる修飾糖部分を含む少なくとも 2 個の修飾ヌクレオシドを含む、態様 1 ~ 52 のいずれかに記載の化合物。

〔態様 54〕前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 5 個の連続した修飾ヌクレオシドを含む修飾領域を含む、態様 1 ~ 53 のいずれかに記載の化合物。

10

〔態様 55〕前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 10 個の連続した修飾ヌクレオシドを含む修飾領域を含む、態様 54 に記載の化合物。

〔態様 56〕前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 15 個の連続した修飾ヌクレオシドを含む修飾領域を含む、態様 54 に記載の化合物。

〔態様 57〕前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 18 個の連続した修飾ヌクレオシドを含む修飾領域を含む、態様 54 に記載の化合物。

〔態様 58〕前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 20 個の連続した修飾ヌクレオシドを含む修飾領域を含む、態様 54 に記載の化合物。

〔態様 59〕前記修飾領域の各修飾ヌクレオシドが、独立して、2' - F、2' - OMe、2' - MOE、cEt、LNA、モルフォリノ、および修飾モルフォリノから選択される修飾糖部分を有する、態様 53 ~ 58 のいずれかに記載の化合物。

20

〔態様 60〕前記修飾領域の前記修飾ヌクレオシドが、各々、互いに同じ修飾を含む、態様 54 ~ 59 のいずれかに記載の化合物。

〔態様 61〕前記修飾領域の前記修飾ヌクレオシドが、各々、同じ 2' - 置換糖部分を含む、態様 60 に記載の化合物。

〔態様 62〕修飾ヌクレオシドの前記領域の前記修飾ヌクレオシドの前記 2' - 置換糖部分が、2' - F、2' - OMe、および 2' - MOE から選択される、態様 61 に記載の化合物。

〔態様 63〕修飾ヌクレオシドの前記領域の前記修飾ヌクレオシドの前記 2' - 置換糖部分が、2' - MOE である、態様 61 に記載の化合物。

30

〔態様 64〕修飾ヌクレオシドの前記領域の前記修飾ヌクレオシドが、各々、同じ二環式糖部分を含む、態様 59 に記載の化合物。

〔態様 65〕修飾ヌクレオシドの前記領域の前記修飾ヌクレオシドの前記二環式糖部分が、LNA および cEt から選択される、態様 64 に記載の化合物。

〔態様 66〕修飾ヌクレオシドの前記領域の前記修飾ヌクレオシドが、各々、糖代理物を含む、態様 59 に記載の化合物。

〔態様 67〕修飾ヌクレオシドの前記領域の前記修飾ヌクレオシドの前記糖代理物が、モルフォリノである、態様 66 に記載の化合物。

〔態様 68〕修飾ヌクレオシドの前記領域の前記修飾ヌクレオシドの前記糖代理物が、修飾モルフォリノである、態様 66 に記載の化合物。

40

〔態様 69〕前記修飾ヌクレオチドが、4 個未満の連続した天然に存在するヌクレオシドを含む、態様 1 ~ 68 のいずれかに記載の化合物。

〔態様 70〕前記修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドが、修飾ヌクレオシドである、態様 1 ~ 68 のいずれかに記載の化合物。

〔態様 71〕各修飾ヌクレオシドが、修飾糖部分を含む、態様 70 に記載の化合物。

〔態様 72〕前記修飾オリゴヌクレオチドの前記修飾ヌクレオシドが、互いに同じ修飾を含む、態様 71 に記載の化合物。

〔態様 73〕前記修飾オリゴヌクレオチドの前記修飾ヌクレオシドが、各々、同じ 2' - 置換糖部分を含む、態様 72 に記載の化合物。

50



〔態様 74〕前記修飾オリゴヌクレオチドの前記 2' - 置換糖部分が、2' - F、2' - OMe、および 2' - MOE から選択される、態様 73 に記載の化合物。

〔態様 75〕前記修飾オリゴヌクレオチドの前記 2' - 置換糖部分が、2' - MOE である、態様 74 に記載の化合物。

〔態様 76〕前記修飾オリゴヌクレオチドの前記修飾ヌクレオシドが、各々、同じ二環式糖部分を含む、態様 72 に記載の化合物。

〔態様 77〕前記修飾オリゴヌクレオチドの前記二環式糖部分が、LNA および cet から選択される、態様 76 に記載の化合物。

〔態様 78〕前記修飾オリゴヌクレオチドの前記修飾ヌクレオシドが、各々、糖代理物を含む、態様 72 に記載の化合物。

10

〔態様 79〕前記修飾オリゴヌクレオチドの前記糖代理物が、モルフォリノである、態様 78 に記載の化合物。

〔態様 80〕前記修飾オリゴヌクレオチドの前記糖代理物が、修飾モルフォリノである、態様 78 に記載の化合物。

〔態様 81〕前記修飾オリゴヌクレオチドが、 $A - B_2 - A - B_2 - A - B_2 - A - B_2 - A - B_2 - A - B_2 - A_2$  モチーフを有し、各 A が、二環式糖部分を含み、各 B が、2' - 置換糖部分および非修飾 2' - デオキシ糖部分から選択される、態様 1 ~ 36 のいずれかに記載の化合物。

〔態様 82〕各 A が、cet 糖部分である、態様 81 に記載の化合物。

20

〔態様 83〕各 A が、LNA 糖部分である、態様 81 に記載の化合物。

〔態様 84〕各 B が、非修飾 2' - デオキシ糖部分である、態様 81 ~ 83 のいずれかに記載の化合物。

〔態様 85〕各 B が、2' - MOE 糖部分である、態様 81 ~ 83 のいずれかに記載の化合物。

〔態様 86〕前記修飾オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの修飾ヌクレオシド間結合を含む、態様 1 ~ 85 のいずれかに記載の化合物。

〔態様 87〕各ヌクレオシド間結合が、修飾ヌクレオシド間結合である、態様 86 に記載の化合物。

〔態様 88〕少なくとも 1 つのホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む、態様 86 または 87 に記載の化合物。

30

〔態様 89〕各ヌクレオシド間結合が、修飾ヌクレオシド間結合であり、各ヌクレオシド間結合が、同じ修飾を含む、態様 1 ~ 85 のいずれかに記載の化合物。

〔態様 90〕各ヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、態様 89 に記載の化合物。

〔態様 91〕前記修飾オリゴヌクレオチドが、4 個のホスホジエステルヌクレオシド間結合を含む、態様 86 に記載の化合物。

〔態様 92〕前記修飾オリゴヌクレオチドが、5 個のホスホジエステルヌクレオシド間結合を含む、態様 86 に記載の化合物。

〔態様 93〕前記修飾オリゴヌクレオチドが、6 個のホスホジエステルヌクレオシド間結合を含む、態様 86 に記載の化合物。

40

〔態様 94〕前記修飾オリゴヌクレオチドが、7 個のホスホジエステルヌクレオシド間結合を含む、態様 86 に記載の化合物。

〔態様 95〕各々残りのヌクレオシド間結合が、ホスホジエステルヌクレオシド間結合である、態様 91 ~ 94 のいずれかに記載の化合物。

〔態様 96〕前記化合物が、 $N_S N_S N_O N_S N_O N_S N_O N_S N_O N_S N_O N_S N_O N_S N_S N_S$  ヌクレオシド間結合モチーフを有し、各 N が、ヌクレオシドを表し、各 S が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表し、各 O が、ホスホジエステルヌクレオシド間結合を表す、態様 1 ~ 85 のいずれかに記載の化合物。

〔態様 97〕前記化合物が、 $N_S N_O N_O N_O N_S N_S N_S N_S N_S N_S N_S N_S N_O N$

50

。N<sub>o</sub>N<sub>s</sub>N<sub>s</sub>Nヌクレオシド間結合モチーフを有し、各Nが、ヌクレオシドを表し、各Sが、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表し、各Oが、ホスホジエステルヌクレオシド間結合を表す、態様1～85のいずれかに記載の化合物。

[態様98] 少なくとも1つの共役体を含む、態様1～97のいずれかに記載の化合物。

[態様99] 前記修飾オリゴヌクレオチドからなる、態様1～98のいずれかに記載の化合物。

[態様100] 前記化合物が、前記タウ転写物のスプライシングを調節する、態様1～99のいずれかに記載の化合物。

[態様101] 前記化合物が、前記4Rタウアイソフォームの発現を減少させる、態様1～99のいずれかに記載の化合物。

[態様102] 前記化合物が、エキソン10を含む発現タウmRNAを減少させる、態様1～99のいずれかに記載の化合物。

[態様103] 前記化合物が、エキソン10 mRNAでコードされたアミノ酸を含む発現タウタンパク質を減少させる、態様1～99のいずれかに記載の化合物。

[態様104] 配列番号8～200で示される配列のうちのいずれかを含む、核酸塩基配列を有する、態様1～8または30～103のいずれかに記載の化合物。

[態様105] 配列番号33、34、147、148、149、150、151、152、または153で示される配列のうちのいずれかを含む、核酸塩基配列を有する、態様1～8または30～103のいずれかに記載の化合物。

[態様106] 配列番号8～200で示される配列のうちのいずれかからなる、核酸塩基配列を有する、態様1～8または30～103のいずれかに記載の化合物。

[態様107] 配列番号33、34、147、148、149、150、151、152、または153で示される配列のうちのいずれかからなる、核酸塩基配列を有する、態様1～8または30～103のいずれかに記載の化合物。

[態様108] 態様1～107のいずれかに記載の化合物を含む、二本鎖化合物。

[態様109] ISIS 670011からなる化合物。

[態様110] ISIS 670012からなる化合物。

[態様111] ISIS 670013からなる化合物。

[態様112] ISIS 670014からなる化合物。

[態様113] ISIS 670015からなる化合物。

[態様114] ISIS 670016からなる化合物。

[態様115] ISIS 670017からなる化合物。

[態様116] ISIS 670018からなる化合物。

[態様117] ISIS 670019からなる化合物。

[態様118] ISIS 670020からなる化合物。

[態様119] ISIS 670021からなる化合物。

[態様120] ISIS 670022からなる化合物。

[態様121] ISIS 670023からなる化合物。

[態様122] ISIS 670024からなる化合物。

[態様123] ISIS 670025からなる化合物。

[態様124] ISIS 670026からなる化合物。

[態様125] ISIS 670027からなる化合物。

[態様126] ISIS 670028からなる化合物。

[態様127] ISIS 678329からなる化合物。

[態様128] ISIS 678330からなる化合物。

[態様129] ISIS 678331からなる化合物。

[態様130] ISIS 678332からなる化合物。

[態様131] ISIS 678333からなる化合物。

[態様132] ISIS 678334からなる化合物。

[態様133] ISIS 693840からなる化合物。

10

20

30

40

50

- [ 態様 1 3 4 ] I S I S 6 9 3 8 4 1 からなる化合物。
- [ 態様 1 3 5 ] I S I S 6 9 3 8 4 2 からなる化合物。
- [ 態様 1 3 6 ] I S I S 6 9 3 8 4 3 からなる化合物。
- [ 態様 1 3 7 ] I S I S 6 9 3 8 4 4 からなる化合物。
- [ 態様 1 3 8 ] I S I S 6 9 3 8 4 5 からなる化合物。
- [ 態様 1 3 9 ] I S I S 6 9 3 8 4 6 からなる化合物。
- [ 態様 1 4 0 ] I S I S 6 9 3 8 4 7 からなる化合物。
- [ 態様 1 4 1 ] I S I S 6 9 3 8 4 8 からなる化合物。
- [ 態様 1 4 2 ] I S I S 6 9 3 8 4 9 からなる化合物。
- [ 態様 1 4 3 ] I S I S 5 4 9 5 7 7 からなる化合物。 10
- [ 態様 1 4 4 ] I S I S 5 4 9 5 8 0 からなる化合物。
- [ 態様 1 4 5 ] I S I S 5 4 9 5 8 1 からなる化合物。
- [ 態様 1 4 6 ] I S I S 5 4 9 5 8 2 からなる化合物。
- [ 態様 1 4 7 ] I S I S 5 4 9 5 8 3 からなる化合物。
- [ 態様 1 4 8 ] I S I S 5 4 9 5 8 4 からなる化合物。
- [ 態様 1 4 9 ] I S I S 5 4 9 5 8 5 からなる化合物。
- [ 態様 1 5 0 ] I S I S 5 4 9 5 8 6 からなる化合物。
- [ 態様 1 5 1 ] I S I S 6 1 7 3 4 1 からなる化合物。
- [ 態様 1 5 2 ] I S I S 6 1 7 3 5 1 からなる化合物。
- [ 態様 1 5 3 ] I S I S 6 1 7 3 5 2 からなる化合物。 20
- [ 態様 1 5 4 ] I S I S 6 1 7 3 5 3 からなる化合物。
- [ 態様 1 5 5 ] I S I S 6 1 7 3 5 8 からなる化合物。
- [ 態様 1 5 6 ] I S I S 6 1 7 3 6 0 からなる化合物。
- [ 態様 1 5 7 ] I S I S 6 1 7 3 6 1 からなる化合物。
- [ 態様 1 5 8 ] I S I S 6 1 7 3 6 2 からなる化合物。
- [ 態様 1 5 9 ] 細胞内のタウ転写物のスプライシングを調節する方法であって、前記細胞を態様 1 ~ 1 5 8 のいずれかに記載の化合物と接触させることを含む、方法。
- [ 態様 1 6 0 ] 前記細胞が、生体外に存在する、態様 1 5 8 に記載の方法。
- [ 態様 1 6 1 ] 前記細胞が、動物中に存在する、態様 1 5 8 に記載の方法。
- [ 態様 1 6 2 ] 細胞内のタウタンパク質の発現を調節する方法であって、前記細胞を態様 1 ~ 1 5 8 のいずれかに記載の化合物と接触させることを含む、方法。 30
- [ 態様 1 6 3 ] タウタンパク質の 4 R アイソフォームの発現が減少する、態様 1 6 2 に記載の方法。
- [ 態様 1 6 4 ] タウタンパク質の 3 R アイソフォームの発現が増加する、態様 1 6 2 に記載の方法。
- [ 態様 1 6 5 ] 前記細胞が、生体外に存在する、態様 1 6 2 ~ 1 6 4 のいずれかに記載の方法。
- [ 態様 1 6 6 ] 前記細胞が動物に存在する、態様 1 6 2 ~ 1 6 4 のいずれかに記載の方法。
- [ 態様 1 6 7 ] タウ関連障害に関連する 1 つ以上の症状を低減または改善する方法であって、細胞を態様 1 ~ 1 5 8 のいずれかに記載の化合物と接触させることを含む、方法。 40
- [ 態様 1 6 8 ] 前記症状が、発作である、態様 1 6 7 に記載の方法。
- [ 態様 1 6 9 ] 前記細胞が動物に存在する、態様 1 6 7 ~ 1 6 8 のいずれかに記載の方法。
- [ 態様 1 7 0 ] 態様 1 ~ 1 5 8 のいずれかに記載の化合物と、薬学的に許容される担体または希釈剤と、を含む、医薬組成物。
- [ 態様 1 7 1 ] 前記薬学的に許容される担体または希釈剤が、滅菌生理食塩水である、態様 1 7 0 に記載の医薬組成物。
- [ 態様 1 7 2 ] 態様 1 7 0 または 1 7 1 に記載の医薬組成物を動物に投与することを含む、方法。 50

- [ 態様 1 7 3 ] 前記投与が注射による、態様 1 7 2 に記載の方法。
- [ 態様 1 7 4 ] 前記投与が全身性である、態様 1 7 2 または 1 7 3 に記載の方法。
- [ 態様 1 7 5 ] 前記投与が C N S に対してである、態様 1 7 2 または 1 7 3 に記載の方法。
- [ 態様 1 7 6 ] 前記動物が、1 つ以上のタウ関連障害に関連する 1 つ以上の症状を有する、態様 1 7 2 ~ 1 7 5 のいずれかに記載の方法。
- [ 態様 1 7 7 ] 前記投与が、1 つ以上のタウ関連障害に関連する 1 つ以上の症状の改善をもたらす、態様 1 7 6 に記載の方法。
- [ 態様 1 7 8 ] 前記動物が、アルツハイマー病に関連する 1 つ以上の症状を有する、態様 1 7 2 ~ 1 7 5 のいずれかに記載の方法。
- [ 態様 1 7 9 ] 前記投与が、アルツハイマー病に関連する 1 つ以上の症状の改善をもたらす、態様 1 7 8 に記載の方法。
- [ 態様 1 8 0 ] 前記動物がマウスである、態様 1 7 2 ~ 1 7 9 のいずれかに記載の方法。
- [ 態様 1 8 1 ] 前記動物がヒトである、態様 1 7 2 ~ 1 7 9 のいずれかに記載の方法。
- [ 態様 1 8 2 ] タウ関連障害の治療において使用するための薬剤の調製のための、態様 1 ~ 1 5 8 のいずれかに記載の化合物または態様 1 7 0 ~ 1 7 1 に記載の組成物の使用。
- [ 態様 1 8 3 ] タウ関連障害に関連する 1 つ以上の症状の改善において使用するための薬剤の調製のための、態様 1 ~ 1 5 8 のいずれかに記載の化合物または態様 1 7 0 ~ 1 7 1 に記載の組成物の使用。
- [ 態様 1 8 4 ] 前記核酸塩基配列が、配列番号 4 5、6 6、6 8、6 9、または 2 0 0 で示される核酸塩基配列からならない、態様 1 ~ 1 8 3 のいずれかに記載の化合物、組成物、または方法。
- [ 態様 1 8 5 ] 前記核酸塩基配列が、核酸塩基配列 C C A G C T T C T T A T T A A T T A T C または T A A G A T C C A G C T T C T T A T T A からならない、態様 1 ~ 1 8 3 のいずれかに記載の化合物、組成物、または方法。
- [ 態様 1 8 6 ] 前記標的領域が、配列番号 1 の核酸塩基 1 2 1 8 2 8 および核酸塩基 1 2 1 8 4 7 内にはない、実施形態 1 ~ 1 8 3 のいずれかに記載の化合物、組成物、または方法。
- [ 態様 1 8 7 ] 前記標的領域が、配列番号 1 の核酸塩基 1 2 1 8 3 4 および核酸塩基 1 2 1 8 5 3 内にはない、実施形態 1 ~ 1 8 3 のいずれかに記載の化合物、組成物、または方法。
- [ 態様 1 8 8 ] 前記標的領域が、配列番号 1 の核酸塩基 1 2 1 8 4 0 および核酸塩基 1 2 1 8 5 9 内にはない、実施形態 1 ~ 1 8 3 のいずれかに記載の化合物、組成物、または方法。
- [ 態様 1 8 9 ] 前記標的領域が、配列番号 1 の核酸塩基 1 2 1 9 2 4 および核酸塩基 1 2 1 9 4 1 内にはない、実施形態 1 ~ 1 8 3 のいずれかに記載の化合物、組成物、または方法。
- [ 態様 1 9 0 ] 前記標的領域が、配列番号 1 の核酸塩基 1 2 1 0 1 2 および核酸塩基 1 2 1 0 2 9 内にはない、実施形態 1 ~ 1 8 3 のいずれかに記載の化合物、組成物、または方法。
- [ 態様 1 9 1 ] 前記標的領域が、配列番号 1 の核酸塩基 1 2 1 0 2 0 および核酸塩基 1 2 1 0 3 7 内にはない、実施形態 1 ~ 1 8 3 のいずれかに記載の化合物、組成物、または方法。
- [ 態様 1 9 2 ] 前記標的領域が、配列番号 1 の核酸塩基 1 2 1 0 2 4 および核酸塩基 1 2 1 0 4 1 内にはない、実施形態 1 ~ 1 8 3 のいずれかに記載の化合物、組成物、または方法。

**【実施例】****【0 2 0 2】**

参照による非限定的な開示および組み込み

本明細書に記載のある特定の化合物、組成物、および方法がある特定の実施形態に従っ

10

20

30

40

50

て具体的に記載されているが、以下の実施例は、本明細書に記載の化合物を例証する役目のみを果たし、それを限定するようには意図されていない。本出願に列挙される参考文献の各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

### 【0203】

実施例1：ヒトタウエキソン10への均一な2'-MOE修飾オリゴヌクレオチドの効果  
一連の修飾オリゴヌクレオチドをヒトタウのエキソン10を標的とするように設計し、生体外でのエキソン10の包含を低下させるそれらの効果についてスクリーニングした。標的部位にわたって、4個のヌクレオチドを上流または下流にシフト（すなわち、マイクロウォーク）することによって、これらの修飾オリゴヌクレオチドを設計した。これらは、18ヌクレオシド長であり、各ヌクレオシドは、2'-MOE修飾を有する。修飾オリゴヌクレオチドの全体の各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合（P=S）である。修飾オリゴヌクレオチドの全体のすべてのシトシン残基は、5-メチルシトシンである。

10

### 【0204】

「開始部位」は、修飾オリゴヌクレオチドが標的とする最も5'側のヌクレオシドを示す。「終止部位」は、修飾オリゴヌクレオチドが標的とする最も3'側のヌクレオシドを示す。以下の表に列記される各修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1（ヌクレオチド9240000～9381000から切断されたGENBANK受託番号NT\_010783.15）を標的にする。

20

### 【0205】

A172細胞を、Lipofectamine 2000（登録商標）を使用して、5nM濃度の修飾オリゴヌクレオチドでトランスフェクトした。約24時間の処理期間後、RNAを細胞から単離し、エキソン10を含有するタウ転写物のmRNAレベルを定量的リアルタイムPCRで測定した。ヒトプライマープローブセット9\_10または10\_11を使用して、mRNAレベルを測定した。RIBOGREEN（登録商標）で測定された総RNA含有量に従ってタウエキソン10 mRNAレベルを調整した。結果を、未処理対照レベルに対するタウエキソン10 mRNA発現の平均パーセントとして提示し、「%UTC」で表示する。

### 【0206】

ヒトプライマープローブセット9\_10（本明細書において配列番号2と指定される順方向配列C A C T G A G A A C C T G A A G C A C C、本明細書において配列番号3と指定される逆方向配列G G A C T G G A C G T T G C T A A G A T C、本明細書において配列番号4と指定されるプローブ配列T T A A T T A T C T G C A C C T T C C C G C C T C C）。

30

### 【0207】

ヒトプライマープローブセット10\_11（本明細書において配列番号5と指定される順方向配列G G A T A A T A T C A A A C A C G T C C C G、本明細書において配列番号6と指定される逆方向配列T G C C T A A T G A G C C A C A C T T G、本明細書において配列番号7と指定されるプローブ配列G T C T A C A A A C C A G T T G A C C T G A G C）。

40

### 【0208】

表1および2に例証されるように、ISIS 549583、549584、549585、549586、549595、549571、549566、549570、549587、549568、549617、549567、549576、549577、549580、および549581は、未処理対照と比較して、ヒトタウエキソン10の包含の70%以上の低下を示す。

【表 1 - 1】

表 1

プライマープローブセット 9\_10 を使用したヒトタウエキソン 10 への均一な 2' -M  
OE 修飾オリゴヌクレオチドの効果

ISIS 番号	配列	%UTC	配列番号 1 開始部位	配列番号 1 終止部位	配列番 号
5495 43	CCCGCCTACTTGC TCGCA	130	12170 8	12172 5	8
5495 44	TGGACCCGCCTAC TTGCT	119	12171 2	12172 9	9
5495 45	ACCCTGGACCCGC CTACT	106	12171 6	12173 3	10
5495 46	CATGCGCCACCCT GGACC	84	12172 4	12174 1	11
5495 47	GTGACATGCGCCA CCCTG	78	12172 8	12174 5	12
5495 48	ATGAGTGACATGC GCCAC	63	12173 2	12174 9	13
5495 49	TTCGATGAGTGAC ATGCG	70.0	12173 6	12175 3	14
5495 50	CACTTTCGATGAG TGACA	69	12174 0	12175 7	15
5495 51	CCTCCACTTTCGA TGAGT	103	12174 4	12176 1	16
5495 52	GACGCCTCCACTT TCGAT	148	12174 8	12176 5	17
5495 53	CAAGGACGCCTCC ACTTT	116	12175 2	12176 9	18
5495 54	CTCGCAAGGACGC CTCCA	80	12175 6	12177 3	19

10

20

30

40

【表 1 - 2】

5 4 9 5 5 5	CTTGCTCGCAAGG ACGCC	1 0 2	1 2 1 7 6 0	1 2 1 7 7 7	2 0
5 4 9 5 5 6	CCTGCTTGCTCGC AAGGA	1 0 9	1 2 1 7 6 4	1 2 1 7 8 1	2 1
5 4 9 5 5 7	CCCGCCTGCTTGC TCGCA	1 0 0	1 2 1 7 6 8	1 2 1 7 8 5	2 2
5 4 9 5 5 8	TGGACCCGCCTGC TTGCT	1 1 1	1 2 1 7 7 2	1 2 1 7 8 9	2 3
5 4 9 5 5 9	ACCCTGGACCCGC CTGCT	1 0 8	1 2 1 7 7 6	1 2 1 7 9 3	2 4
5 4 9 5 6 0	CGCCACCCTGGAC CCGCC	8 8	1 2 1 7 2 0	1 2 1 7 3 7	2 5
			1 2 1 7 8 0	1 2 1 7 9 7	
5 4 9 5 6 1	GACACGCCACCCT GGACC	8 3	1 2 1 7 8 4	1 2 1 8 0 1	2 6
5 4 9 5 6 2	GAGTGACACGCCA CCCTG	7 7	1 2 1 7 8 8	1 2 1 8 0 5	2 7
5 4 9 5 6 3	GGATGAGTGACAC GCCAC	5 8	1 2 1 7 9 2	1 2 1 8 0 9	2 8
5 4 9 5 6 4	AAAAGGATGAGTG ACACG	4 9	1 2 1 7 9 6	1 2 1 8 1 3	2 9
5 4 9 5 6 5	AGAAAAAAGGATG AGTGA	3 5	1 2 1 8 0 0	1 2 1 8 1 7	3 0
5 4 9 5 6 6	AGCCAGAAAAAAG GATGA	2 1	1 2 1 8 0 4	1 2 1 8 2 1	3 1
5 4 9 5 6 7	TGGTAGCCAGAAA AAAGG	3 2	1 2 1 8 0 8	1 2 1 8 2 5	3 2
5 4 9 5 8 3	TTATCCTTTGAGC CACAC	1 1	1 2 1 8 7 6	1 2 1 8 9 3	3 3

10

20

30

40

【表 1 - 3】

5 4 9 5 8 4	GATATTATCCTTT GAGCC	1 1	1 2 1 8 8 0	1 2 1 8 9 7	3 4
5 4 9 5 8 5	GTTTGATATTATC CTTTG	1 3	1 2 1 8 8 4	1 2 1 9 0 1	3 5
5 4 9 5 8 6	ACGTGTTTGATAT TATCC	1 7	1 2 1 8 8 8	1 2 1 9 0 5	3 6
5 4 9 5 8 7	CGGGACGTGTTTG ATATT	2 4	1 2 1 8 9 2	1 2 1 9 0 9	3 7
5 4 9 5 8 8	CTCCCGGGACGTG TTTGA	5 2	1 2 1 8 9 6	1 2 1 9 1 3	3 8
5 4 9 5 8 9	CCGCCTCCCGGGA CGTGT	5 7	1 2 1 9 0 0	1 2 1 9 1 7	3 9
5 4 9 5 9 0	ACTGCCGCCTCCC GGGAC	8 4	1 2 1 9 0 4	1 2 1 9 2 1	4 0
5 4 9 5 9 1	TCACACTGCCGCC TCCCG	4 8	1 2 1 9 0 8	1 2 1 9 2 5	4 1
5 4 9 5 9 2	GTACTCACACTGC CGCCT	3 0	1 2 1 9 1 2	1 2 1 9 2 9	4 2
5 4 9 5 9 3	GAAGGTACTCACA CTGCC	3 5	1 2 1 9 1 6	1 2 1 9 3 3	4 3
5 4 9 5 9 4	GTGTGAAGGTACT CACAC	6 3	1 2 1 9 2 0	1 2 1 9 3 7	4 4
5 4 9 5 9 5	GGACGTGTGAAGG TACTC	2 0	1 2 1 9 2 4	1 2 1 9 4 1	4 5
5 4 9 5 9 6	CATGGGACGTGTG AAGGT	1 2 5	1 2 1 9 2 8	1 2 1 9 4 5	4 6
5 4 9 5 9 7	GGCGCATGGGACG TGTGA	2 1 6	1 2 1 9 3 2	1 2 1 9 4 9	4 7
5 4 9 5 9 8	GCACGGCGCATGG GACGT	2 4 2	1 2 1 9 3 6	1 2 1 9 5 3	4 8

10

20

30

40



【表 1 - 4】

5 4 9 5 9 9	CACAGCACGGCGC ATGGG	1 5 8	1 2 1 9 4 0	1 2 1 9 5 7	4 9
5 4 9 6 0 0	AAGCCACAGCACG GCGCA	1 6 2	1 2 1 9 4 4	1 2 1 9 6 1	5 0
5 4 9 6 0 1	ATTCAAGCCACAG CACGG	1 7 5	1 2 1 9 4 8	1 2 1 9 6 5	5 1
5 4 9 6 0 2	AATAATTCAAGCC ACAGC	1 6 4	1 2 1 9 5 2	1 2 1 9 6 9	5 2
5 4 9 6 0 3	TCCTAATAATTCA AGCCA	2 0 0	1 2 1 9 5 6	1 2 1 9 7 3	5 3
5 4 9 6 0 4	CACTTCCTAATAA TTCAA	1 3 3	1 2 1 9 6 0	1 2 1 9 7 7	5 4
5 4 9 6 0 5	ACACCACTTCCTA ATAAT	1 1 3	1 2 1 9 6 4	1 2 1 9 8 1	5 5
5 4 9 6 0 6	ACTCACACCACTT CCTAA	1 3 6	1 2 1 9 6 8	1 2 1 9 8 5	5 6
5 4 9 6 0 8	GTGTACGCACTCA CACCA	8 0. 6	1 2 1 9 7 6	1 2 1 9 9 3	5 7
5 4 9 6 0 9	GCAAGTGTACGCA CTCAC	4 9. 9	1 2 1 9 8 0	1 2 1 9 9 7	5 8
5 4 9 6 1 0	TCTCGCAAGTGTA CGCAC	8 6. 5	1 2 1 9 8 4	1 2 2 0 0 1	5 9
5 4 9 6 1 1	AGTGTCTCGCAAG TGTAC	6 2. 4	1 2 1 9 8 8	1 2 2 0 0 5	6 0
5 4 9 6 1 2	ATGCAGTGTCTCG CAAGT	4 6. 4	1 2 1 9 9 2	1 2 2 0 0 9	6 1
5 4 9 6 1 3	TTCTATGCAGTGT CTCGC	4 6. 6	1 2 1 9 9 6	1 2 2 0 1 3	6 2
5 4 9 6 1 4	TTTATTCTATGCA GTGTC	3 3. 2	1 2 2 0 0 0	1 2 2 0 1 7	6 3

10

20

30

40

【表 1 - 5】

5 4 9 6 1 5	AGGATTTATTCTA TGCAG	3 4. 3	1 2 2 0 0 4	1 2 2 0 2 1	6 4
5 4 9 6 1 6	AAGAAGGATTTAT TCTAT	4 6. 5	1 2 2 0 0 8	1 2 2 0 2 5	6 5
5 4 9 6 1 7	GCCCAAGAAGGAT TTATT	2 9. 6	1 2 2 0 1 2	1 2 2 0 2 9	6 6
5 4 9 6 1 8	GAGAGCCCAAGAA GGATT	3 8. 6	1 2 2 0 1 6	1 2 2 0 3 3	6 7
5 4 9 6 1 9	TCCTGAGAGCCCA AGAAG	3 6. 9	1 2 2 0 2 0	1 2 2 0 3 7	6 8
5 4 9 6 2 0	CAGATCCTGAGAG CCCAA	3 8. 3	1 2 2 0 2 4	1 2 2 0 4 1	6 9

【表 2 - 1】

表 2

プライマープローブセット 10\_11 を使用したヒトタウエキソンへの均一な 2' -MO  
E 修飾オリゴヌクレオチドの効果

ISI S 番号	配列	%UT C	配列番号 1 開 始部位	配列番号 1 終 止部位	ミスマッチ	配列番 号
549 543	CCCGCCTACTTGCT CGCA	128	121708	121725	0	8
			121768	121785	1	
549 544	TGGACCCGCCTACT TGCT	117	121712	121729	0	9
			121772	121789	1	
549 545	ACCCTGGACCCGCC TACT	98	121716	121733	0	10
			121776	121793	1	
549 546	CATGCGCCACCCTG GACC	78	121724	121741	0	11
549 547	GTGACATGCGCCAC CCTG	75	121728	121745	0	12
549 548	ATGAGTGACATGCG CCAC	63	121732	121749	0	13
549 549	TTCGATGAGTGACA TGCG	74	121736	121753	0	14
549 550	CACTTTCGATGAGT GACA	76	121740	121757	0	15
549 551	CCTCCACTTTCGAT GAGT	107	121744	121761	0	16
549 552	GACGCCTCCACTTT CGAT	137	121748	121765	0	17
549 553	CAAGGACGCCTCCA CTTT	108	121692	121709	1	18
			121752	121769	0	
549 554	CTCGCAAGGACGCC TCCA	71	121696	121713	1	19
			121756	121773	0	

10

20

30

40

【表 2 - 2】

549	CTTGCTCGCAAGGA	108	121700	121717	1	20
555	CGCC		121760	121777	0	
549	CCTGCTTGCTCGCA	106	121704	121721	1	21
556	AGGA		121764	121781	0	
549	CCCGCCTGCTTGCT	93	121708	121725	1	22
557	CGCA		121768	121785	0	
549	TGGACCCGCCTGCT	111	121712	121729	1	23
558	TGCT		121772	121789	0	
549	ACCCTGGACCCGCC	100	121716	121733	1	24
559	TGCT		121776	121793	0	
549	CGCCACCCTGGACC	89	121720	121737	0	25
560	CGCC		121780	121797	0	
549	GACACGCCACCCTG	80	121784	121801	0	26
561	GACC					
549	GAGTGACACGCCAC	81	121788	121805	0	27
562	CCTG					
549	GGATGAGTGACACG	54	121792	121809	0	28
563	CCAC					
549	AAAAGGATGAGTGA	45	121796	121813	0	29
564	CACG					
549	AGAAAAAAGGATGA	34	121800	121817	0	30
565	GTGA					
549	AGCCAGAAAAAAGG	19	121804	121821	0	31
566	ATGA					
549	TGGTAGCCAGAAAA	31	121808	121825	0	32
567	AAGG					
549	CCTTTGGTAGCCAG	23	121812	121829	0	70
568	AAAA					

10

20

30

40

【表 2 - 3】

549 569	TGCACCTTTGGTAG CCAG	53	121816	121833	0	71
549 570	TAATTATCTGCACC TTTG	26	121824	121841	0	72
549 571	TTCTTAATTATCTG CACC	21	121828	121845	1	73
549 572	CTTCTTCTTAATTA TCTG	30	121832	121849	1	74
549 573	CCAGCTTCTTCTTA ATTA	34	121836	121853	1	75
549 574	AGATCCAGCTTCTT CTTA	43	121840	121857	1	76
549 575	GCTAAGATCCAGCT TCTT	25	121844	121861	0	77
549 576	CGTTGCTAAGATCC AGCT	18	121848	121865	0	78
549 577	TGGACGTTGCTAAG ATCC	16	121852	121869	0	79
549 578	GGACTGGACGTTGC TAAG	44	121856	121873	0	80
549 579	ACTTGGACTGGACG TTGC	36	121860	121877	0	81
549 580	CCACACTTGGACTG GACG	19	121864	121881	0	82
549 581	TGAGCCACACTTGG ACTG	16	121868	121885	0	83
549 595	GGACGTGTGAAGGT ACTC	20	121924	121941	0	45
549 596	CATGGGACGTGTGA AGGT	128	121928	121945	0	46

10

20

30

40

【表 2 - 4】

549 597	GGCGCATGGGACGT GTGA	199	121932	121949	0	47
549 598	GCACGGCGCATGGG ACGT	199	121936	121953	0	48
549 599	CACAGCACGGCGCA TGGG	149	121940	121957	0	49
549 600	AAGCCACAGCACGG CGCA	156	121944	121961	0	50
549 601	ATTCAAGCCACAGC ACGG	166	121948	121965	0	51
549 602	AATAATTCAAGCCA CAGC	159	121952	121969	0	52
549 603	TCCTAATAATTCAA GCCA	179	121956	121973	0	53
549 604	CACTTCCTAATAAT TCAA	123	121960	121977	0	54
549 605	ACACCACTTCCTAA TAAT	113	121964	121981	0	55
549 606	ACTCACACCACTTC CTAA	119	121968	121985	0	56
549 608	GTGTACGCACTCAC ACCA	77. 2	121976	121993	0	57
549 609	GCAAGTGTACGCAC TCAC	53. 0	121980	121997	0	58
549 610	TCTCGCAAGTGTAC GCAC	87. 4	121984	122001	0	59
549 611	AGTGTCTCGCAAGT GTAC	69. 2	121988	122005	0	60
549	ATGCAGTGTCTCGC	43.	121992	122009	0	61

10

20

30

40

【表 2 - 5】

6 1 2	AAGT	3				
5 4 9 6 1 3	TTCTATGCAGTGTC TCGC	4 1. 4	1 2 1 9 9 6	1 2 2 0 1 3	0	6 2
5 4 9 6 1 4	TTTATTCTATGCAG TGTC	2 9. 2	1 2 2 0 0 0	1 2 2 0 1 7	0	6 3
5 4 9 6 1 5	AGGATTTATTCTAT GCAG	3 0. 9	1 2 2 0 0 4	1 2 2 0 2 1	0	6 4
5 4 9 6 1 6	AAGAAGGATTTATT CTAT	4 5. 8	1 2 2 0 0 8	1 2 2 0 2 5	0	6 5
5 4 9 6 1 7	GCCCAAGAAGGATT TATT	3 1. 8	1 2 2 0 1 2	1 2 2 0 2 9	0	6 6
5 4 9 6 1 8	GAGAGCCCAAGAAG GATT	4 1. 8	1 2 2 0 1 6	1 2 2 0 3 3	0	6 7
5 4 9 6 1 9	TCCTGAGAGCCCAA GAAG	4 1. 7	1 2 2 0 2 0	1 2 2 0 3 7	0	6 8
5 4 9 6 2 0	CAGATCCTGAGAGC CCAA	3 5. 6	1 2 2 0 2 4	1 2 2 0 4 1	0	6 9

10

20

## 【 0 2 0 9 】

実施例 2：ヒトタウエキソン 10 への均一な 2' - MOE 修飾オリゴヌクレオチドの効果  
一連の修飾オリゴヌクレオチドをヒトタウのエキソン 10 を標的とするように設計し、  
生体外でのエキソン 10 の包含を低下させるそれらの効果についてスクリーニングした。  
標的部位にわたって、1 個のヌクレオチドを上流または下流にシフト（すなわち、マイク  
ロウオーク）することによって、これらの修飾オリゴヌクレオチドを設計した。これらは  
、18ヌクレオシド長であり、各ヌクレオシドは、2' - MOE 修飾を有する。修飾オリ  
ゴヌクレオチドの全体の各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結  
合（P = S）である。修飾オリゴヌクレオチドの全体のすべてのシトシン残基は、5 - メ  
チルシトシンである。

30

## 【 0 2 1 0 】

「開始部位」は、修飾オリゴヌクレオチドが標的とする最も 5' 側のヌクレオシドを示  
す。「終止部位」は、修飾オリゴヌクレオチドが標的とする最も 3' 側のヌクレオシドを  
示す。以下の表に列記される各修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 1（ヌクレオチド 9  
2 4 0 0 0 0 ~ 9 3 8 1 0 0 0 から切断された GENBANK 受託番号 NT\_01078  
3.15）を標的にする。

40

## 【 0 2 1 1 】

A172 細胞を、Lipofectamine 2000（登録商標）を使用して、5 n  
M 濃度の修飾オリゴヌクレオチドでトランスフェクトした。約 24 時間の処理期間後、R  
NA を細胞から単離し、エキソン 10 を含有するタウ転写物の mRNA レベルを定量的リ  
アルタイム PCR で測定した。ヒトタウプライマープローブセット 10\_11 または 9\_10  
R5 を使用して、mRNA レベルを測定した。RIBOGREEN（登録商標）で

50

測定された総RNA含有量に従ってタウエキソン10 mRNAレベルを調整した。結果を、未処理対照レベルに対するタウエキソン10 mRNA発現の平均パーセントとして提示し、「%UTC」で表示する。

【0212】

ヒトプライマープローブセット10\_\_11（本明細書において配列番号5と指定される順方向配列GGATAATATCAAAACACGTCCCG、本明細書において配列番号6と指定される逆方向配列TGCCTAATGAGCCACACTTG、本明細書において配列番号7と指定されるプローブ配列GTCTACAAACCAGTTGACCTGAGC）。

【0213】

ヒトタウプライマープローブセット9\_\_10 R5（本明細書において配列番号2と指定される順方向配列CACTGAGAACCTGAAGCACCC、本明細書において配列番号3と指定される、逆方向配列GGACGTTGCTAAGATCCAGCT、本明細書において配列番号4と指定されるプローブ配列TTAATTATCTGCACCTTCCCGCCTCC）。



【表 3 - 1】

表 3

ヒトタウプライマープローブセット 10\_\_11 を使用したヒトタウエキソン 10 への均一な 2' -MOE 修飾オリゴヌクレオチドの効果

ISIS 番号	配列	%UT C	配列番号 1 開 始部位	配列番号 1 終止部位	配列番 号
5495 64	AAAAGGATGAGTG ACACG	43	121796	12181 3	29
6172 96	AAAAAGGATGAGT GACAC	38	121797	12181 4	84
6172 97	AAAAAAGGATGAG TGACA	40	121798	12181 5	85
6172 98	GAAAAAAGGATGA GTGAC	39	121799	12181 6	86
5495 65	AGAAAAAAGGATG AGTGA	45	121800	12181 7	30
6172 99	CAGAAAAAAGGAT GAGTG	39	121801	12181 8	87
6173 00	CCAGAAAAAAGGA TGAGT	34	121802	12181 9	88
6173 01	GCCAGAAAAAAGG ATGAG	34	121803	12182 0	89
5495 66	AGCCAGAAAAAAG GATGA	21	121804	12182 1	31
6173 02	TAGCCAGAAAAAA GGATG	26	121805	12182 2	90
6173 03	GTAGCCAGAAAAA AGGAT	27	121806	12182 3	91

10

20

30

40

【表 3 - 2】

6 1 7 3 0 4	GGTAGCCAGAAAA AAGGA	3 2	1 2 1 8 0 7	1 2 1 8 2 4	9 2
5 4 9 5 6 7	TGGTAGCCAGAAA AAAGG	3 9	1 2 1 8 0 8	1 2 1 8 2 5	3 2
6 1 7 3 0 5	TTGGTAGCCAGAA AAAAG	3 4	1 2 1 8 0 9	1 2 1 8 2 6	9 3
6 1 7 3 0 6	TTTGGTAGCCAGA AAAAA	4 9	1 2 1 8 1 0	1 2 1 8 2 7	9 4
6 1 7 3 0 7	CTTTGGTAGCCAG AAAAA	3 7	1 2 1 8 1 1	1 2 1 8 2 8	9 5
5 4 9 5 6 8	CCTTTGGTAGCCA GAAAA	2 7	1 2 1 8 1 2	1 2 1 8 2 9	7 0
6 1 7 3 0 8	ACCTTTGGTAGCC AGAAA	3 1	1 2 1 8 1 3	1 2 1 8 3 0	9 6
6 1 7 3 0 9	CACCTTTGGTAGC CAGAA	2 3	1 2 1 8 1 4	1 2 1 8 3 1	9 7
6 1 7 3 1 0	GCACCTTTGGTAG CCAGA	5 9	1 2 1 8 1 5	1 2 1 8 3 2	9 8
5 4 9 5 6 9	TGCACCTTTGGTA GCCAG	5 9	1 2 1 8 1 6	1 2 1 8 3 3	7 1
6 1 7 3 1 1	CTGCACCTTTGGT AGCCA	5 9	1 2 1 8 1 7	1 2 1 8 3 4	9 9
6 1 7 3 1 2	TCTGCACCTTTGG TAGCC	5 8	1 2 1 8 1 8	1 2 1 8 3 5	1 0 0
6 1 7 3 1 3	ATCTGCACCTTTG GTAGC	5 3	1 2 1 8 1 9	1 2 1 8 3 6	1 0 1
4 1 5 8 6 6	TATCTGCACCTTT GGTAG	4 1	1 2 1 8 2 0	1 2 1 8 3 7	1 0 2

10

20

30

40

【表 3 - 3】

6 1 7 3 1 4	TTATCTGCACCTT TGGTA	3 6	1 2 1 8 2 1	1 2 1 8 3 8	1 0 3
6 1 7 3 1 5	ATTATCTGCACCT TTGGT	3 1	1 2 1 8 2 2	1 2 1 8 3 9	1 0 4
6 1 7 3 1 6	AATTATCTGCACC TTTGG	3 8	1 2 1 8 2 3	1 2 1 8 4 0	1 0 5
5 4 9 5 7 0	TAATTATCTGCAC CTTTG	2 1	1 2 1 8 2 4	1 2 1 8 4 1	7 2
6 1 7 3 1 7	TTAATTATCTGCA CCTTT	2 3	1 2 1 8 2 5	1 2 1 8 4 2	1 0 6
6 1 7 3 1 8	ATTAATTATCTGC ACCTT	2 5	1 2 1 8 2 6	1 2 1 8 4 3	1 0 7
6 1 7 3 1 9	TATTAATTATCTG CACCT	2 7	1 2 1 8 2 7	1 2 1 8 4 4	1 0 8
6 1 7 3 2 0	TTATTAATTATCT GCACC	2 7	1 2 1 8 2 8	1 2 1 8 4 5	1 0 9
6 1 7 3 2 1	CTTATTAATTATC TGCAC	2 6	1 2 1 8 2 9	1 2 1 8 4 6	1 1 0
6 1 7 3 2 2	TCTTATTAATTAT CTGCA	2 5	1 2 1 8 3 0	1 2 1 8 4 7	1 1 1
6 1 7 3 2 3	TTCTTATTAATTA TCTGC	2 5	1 2 1 8 3 1	1 2 1 8 4 8	1 1 2
6 1 7 3 2 4	CTTCTTATTAATT ATCTG	2 5	1 2 1 8 3 2	1 2 1 8 4 9	1 1 3
6 1 7 3 2 5	GCTTCTTATTAAT TATCT	2 6	1 2 1 8 3 3	1 2 1 8 5 0	1 1 4

10

20

30

40

【表 3 - 4】

6 1 7 3 2 6	AGCTTCTTATTAA TTATC	3 2	1 2 1 8 3 4	1 2 1 8 5 1	1 1 5
6 1 7 3 2 7	CAGCTTCTTATTA ATTAT	3 1	1 2 1 8 3 5	1 2 1 8 5 2	1 1 6
6 1 7 3 2 8	CCAGCTTCTTATT AATTA	2 9	1 2 1 8 3 6	1 2 1 8 5 3	1 1 7
6 1 7 3 2 9	TCCAGCTTCTTAT TAATT	3 5	1 2 1 8 3 7	1 2 1 8 5 4	1 1 8
6 1 7 3 3 0	ATCCAGCTTCTTA TTAAT	2 9	1 2 1 8 3 8	1 2 1 8 5 5	1 1 9
6 1 7 3 3 1	GATCCAGCTTCTT ATTAA	3 3	1 2 1 8 3 9	1 2 1 8 5 6	1 2 0
6 1 7 3 3 2	AGATCCAGCTTCT TATTA	3 3	1 2 1 8 4 0	1 2 1 8 5 7	1 2 1
6 1 7 3 3 3	AAGATCCAGCTTC TTATT	3 7	1 2 1 8 4 1	1 2 1 8 5 8	1 2 2
6 1 7 3 3 4	TAAGATCCAGCTT CTTAT	4 2	1 2 1 8 4 2	1 2 1 8 5 9	1 2 3
6 1 7 3 3 5	CTAAGATCCAGCT TCTTA	3 4	1 2 1 8 4 3	1 2 1 8 6 0	1 2 4
5 4 9 5 7 5	GCTAAGATCCAGC TTCTT	2 9	1 2 1 8 4 4	1 2 1 8 6 1	7 7
6 1 7 3 3 6	TGCTAAGATCCAG CTTCT	4 2	1 2 1 8 4 5	1 2 1 8 6 2	1 2 5
6 1 7 3 3 7	TTGCTAAGATCCA GCTTC	3 6	1 2 1 8 4 6	1 2 1 8 6 3	1 2 6

10

20

30

40

【表 3 - 5】

6 1 7 3 3 8	GTTGCTAAGATCC AGCTT	3 5	1 2 1 8 4 7	1 2 1 8 6 4	1 2 7
5 4 9 5 7 6	CGTTGCTAAGATC CAGCT	2 6	1 2 1 8 4 8	1 2 1 8 6 5	7 8
6 1 7 3 3 9	ACGTTGCTAAGAT CCAGC	2 5	1 2 1 8 4 9	1 2 1 8 6 6	1 2 8
6 1 7 3 4 0	GACGTTGCTAAGA TCCAG	3 0	1 2 1 8 5 0	1 2 1 8 6 7	1 2 9
6 1 7 3 4 1	GGACGTTGCTAAG ATCCA	2 4	1 2 1 8 5 1	1 2 1 8 6 8	1 3 0
5 4 9 5 7 7	TGGACGTTGCTAA GATCC	2 5	1 2 1 8 5 2	1 2 1 8 6 9	7 9
6 1 7 3 4 2	CTGGACGTTGCTA AGATC	2 7	1 2 1 8 5 3	1 2 1 8 7 0	1 3 1
6 1 7 3 4 3	ACTGGACGTTGCT AAGAT	2 9	1 2 1 8 5 4	1 2 1 8 7 1	1 3 2
6 1 7 3 4 4	GACTGGACGTTGC TAAGA	3 4	1 2 1 8 5 5	1 2 1 8 7 2	1 3 3
5 4 9 5 7 8	GGACTGGACGTTG CTAAG	4 0	1 2 1 8 5 6	1 2 1 8 7 3	8 0
6 1 7 3 4 5	TGGA CTGGACGTT GCTAA	5 1	1 2 1 8 5 7	1 2 1 8 7 4	1 3 4
6 1 7 3 4 6	TTGGA CTGGACGT TGCTA	4 3	1 2 1 8 5 8	1 2 1 8 7 5	1 3 5
6 1 7 3 4 7	CTTGA CTGGACG TTGCT	3 8	1 2 1 8 5 9	1 2 1 8 7 6	1 3 6

10

20

30

40

【表 3 - 6】

5 4 9 5 7 9	ACTTGGACTGGAC GTTGC	3 4	1 2 1 8 6 0	1 2 1 8 7 7	8 1
6 1 7 3 4 8	CACTTGGACTGGA CGTTG	3 9	1 2 1 8 6 1	1 2 1 8 7 8	1 3 7
6 1 7 3 4 9	ACACTTGGACTGG ACGTT	3 0	1 2 1 8 6 2	1 2 1 8 7 9	1 3 8
6 1 7 3 5 0	CACACTTGGACTG GACGT	3 2	1 2 1 8 6 3	1 2 1 8 8 0	1 3 9
5 4 9 5 8 0	CCACACTTGGACT GGACG	2 7	1 2 1 8 6 4	1 2 1 8 8 1	8 2
6 1 7 3 5 1	GCCACACTTGGAC TGGAC	2 3	1 2 1 8 6 5	1 2 1 8 8 2	1 4 0
6 1 7 3 5 2	AGCCACACTTGGA CTGGA	2 3	1 2 1 8 6 6	1 2 1 8 8 3	1 4 1
6 1 7 3 5 3	GAGCCACACTTGG ACTGG	2 6	1 2 1 8 6 7	1 2 1 8 8 4	1 4 2
5 4 9 5 8 1	TGAGCCACACTTG GACTG	2 4	1 2 1 8 6 8	1 2 1 8 8 5	8 3

10

20

30

【表 4 - 1】

表 4

ヒトタウプライマープローブセット 9\_10 R5を使用したヒトタウエキソン10への  
均一な2'-MOE修飾オリゴヌクレオチドの効果

ISIS 番号	配列	%UT C	配列番号1開 始部位	配列番号1 終止部位	配列番号
6173 54	TTGAGCCACACTT GGACT	21	121869	12188 6	143
6173 55	TTTGAGCCACACT TGGAC	22	121870	12188 7	144
6173 56	CTTTGAGCCACAC TTGGA	16	121871	12188 8	145
5495 82	CCTTTGAGCCACA CTTGG	14	121872	12188 9	146
6173 57	TCCTTTGAGCCAC ACTTG	17	121873	12189 0	147
6173 58	ATCCTTTGAGCCA CACTT	17	121874	12189 1	148
6173 59	TATCCTTTGAGCC AACT	19	121875	12189 2	149
5495 83	TTATCCTTTGAGC CACAC	20	121876	12189 3	33
6173 60	ATTATCCTTTGAG CCACA	21	121877	12189 4	150
6173 61	TATTATCCTTTGA GCCAC	15	121878	12189 5	151
6173 62	ATATTATCCTTTG AGCCA	16	121879	12189 6	152

10

20

30

40

【表 4 - 2】

5 4 9 5 8 4	GATATTATCCTTT GAGCC	1 7	1 2 1 8 8 0	1 2 1 8 9 7	3 4
5 6 5 9 8 9	TGATATTATCCTT TGAGC	1 7	1 2 1 8 8 1	1 2 1 8 9 8	1 5 3
5 6 5 9 9 0	TTGATATTATCCT TTGAG	2 0	1 2 1 8 8 2	1 2 1 8 9 9	1 5 4
5 6 5 9 9 1	TTTGATATTATCC TTTGA	2 8	1 2 1 8 8 3	1 2 1 9 0 0	1 5 5
5 4 9 5 8 5	GTTTGATATTATC CTTTG	2 2	1 2 1 8 8 4	1 2 1 9 0 1	3 5
6 1 7 3 6 3	TGTTTGATATTAT CCTTT	2 5	1 2 1 8 8 5	1 2 1 9 0 2	1 5 6
6 1 7 3 6 4	GTGTTTGATATTA TCCTT	2 2	1 2 1 8 8 6	1 2 1 9 0 3	1 5 7
6 1 7 3 6 5	CGTGTTTGATATT ATCCT	2 0	1 2 1 8 8 7	1 2 1 9 0 4	1 5 8
5 4 9 5 8 6	ACGTGTTTGATAT TATCC	2 1	1 2 1 8 8 8	1 2 1 9 0 5	3 6
6 1 7 3 6 6	GACGTGTTTGATA TTATC	2 4	1 2 1 8 8 9	1 2 1 9 0 6	1 5 9
6 1 7 3 6 7	GGACGTGTTTGAT ATTAT	1 6	1 2 1 8 9 0	1 2 1 9 0 7	1 6 0
6 1 7 3 6 8	GGGACGTGTTTGA TATTA	3 3	1 2 1 8 9 1	1 2 1 9 0 8	1 6 1
5 4 9 5 8 7	CGGGACGTGTTTG ATATT	2 0	1 2 1 8 9 2	1 2 1 9 0 9	3 7

10

20

30

40



【表 4 - 3】

6 1 7 3 6 9	CCGGGACGTGTTT GATAT	2 5	1 2 1 8 9 3	1 2 1 9 1 0	1 6 2
6 1 7 3 7 0	CCCGGGACGTGTT TGATA	4 3	1 2 1 8 9 4	1 2 1 9 1 1	1 6 3
6 1 7 3 7 1	TCCCGGGACGTGT TTGAT	5 2	1 2 1 8 9 5	1 2 1 9 1 2	1 6 4
5 4 9 5 8 8	CTCCCGGGACGTG TTTGA	5 3	1 2 1 8 9 6	1 2 1 9 1 3	3 8
5 4 9 5 9 0	ACTGCCGCCTCCC GGGAC	4 8	1 2 1 9 0 4	1 2 1 9 2 1	4 0
6 1 7 3 7 2	CACTGCCGCCTCC CGGGA	7 1	1 2 1 9 0 5	1 2 1 9 2 2	1 6 5
6 1 7 3 7 3	ACACTGCCGCCTC CCGGG	6 0	1 2 1 9 0 6	1 2 1 9 2 3	1 6 6
6 1 7 3 7 4	CACACTGCCGCCT CCCGG	4 0	1 2 1 9 0 7	1 2 1 9 2 4	1 6 7
5 4 9 5 9 1	TCACACTGCCGCC TCCCG	4 7	1 2 1 9 0 8	1 2 1 9 2 5	4 1
6 1 7 3 7 5	CTCACACTGCCGC CTCCC	3 3	1 2 1 9 0 9	1 2 1 9 2 6	1 6 8
6 1 7 3 7 6	ACTCACACTGCCG CCTCC	3 4	1 2 1 9 1 0	1 2 1 9 2 7	1 6 9
6 1 7 3 7 7	TACTCACACTGCC GCCTC	3 4	1 2 1 9 1 1	1 2 1 9 2 8	1 7 0
5 4 9 5 9 2	GTACTIONACTGC CGCCT	3 1	1 2 1 9 1 2	1 2 1 9 2 9	4 2

10

20

30

40

【表 4 - 4】

6 1 7 3 7 8	GGTACTCACA CTG CCGCC	2 9	1 2 1 9 1 3	1 2 1 9 3 0	1 7 1
6 1 7 3 7 9	AGGTACTCACA CT GCCGC	3 4	1 2 1 9 1 4	1 2 1 9 3 1	1 7 2
6 1 7 3 8 0	AAGGTACTCACA C TGCCG	4 3	1 2 1 9 1 5	1 2 1 9 3 2	1 7 3
5 4 9 5 9 3	GAAGGTACTCACA CTGCC	3 3	1 2 1 9 1 6	1 2 1 9 3 3	4 3
6 1 7 3 8 1	TGAAGGTACTCAC ACTGC	2 8	1 2 1 9 1 7	1 2 1 9 3 4	1 7 4
6 1 7 3 8 2	GTGAAGGTACTCA CACTG	4 1	1 2 1 9 1 8	1 2 1 9 3 5	1 7 5
6 1 7 3 8 3	TGTGAAGGTACTC ACACT	4 3	1 2 1 9 1 9	1 2 1 9 3 6	1 7 6
5 4 9 5 9 4	GTGTGAAGGTACT CACAC	6 8	1 2 1 9 2 0	1 2 1 9 3 7	4 4
6 1 7 3 8 4	CGTGTGAAGGTAC TCACA	3 5	1 2 1 9 2 1	1 2 1 9 3 8	1 7 7
6 1 7 3 8 5	ACGTGTGAAGGTA CTCAC	3 4	1 2 1 9 2 2	1 2 1 9 3 9	1 7 8
6 1 7 3 8 6	GACGTGTGAAGGT ACTCA	2 9	1 2 1 9 2 3	1 2 1 9 4 0	1 7 9
5 4 9 5 9 5	GGACGTGTGAAGG TACTC	2 6	1 2 1 9 2 4	1 2 1 9 4 1	4 5
6 1 7 3 8 7	GGGACGTGTGAAG GTACT	3 6	1 2 1 9 2 5	1 2 1 9 4 2	1 8 0

10

20

30

40

【表 4 - 5】

6 1 7 3 8 8	TGGGACGTGTGAA GGTAC	3 6	1 2 1 9 2 6	1 2 1 9 4 3	1 8 1
6 1 7 3 8 9	ATGGGACGTGTGA AGGTA	9 4	1 2 1 9 2 7	1 2 1 9 4 4	1 8 2
5 4 9 5 9 6	CATGGGACGTGTG AAGGT	1 4 1	1 2 1 9 2 8	1 2 1 9 4 5	4 6
6 1 7 3 9 0	GCATGGGACGTGT GAAGG	2 9 7	1 2 1 9 2 9	1 2 1 9 4 6	1 8 3
5 1 0 1 8 4	CGCATGGGACGTG TGAAG	2 9 5	1 2 1 9 3 0	1 2 1 9 4 7	1 8 4
6 1 7 3 9 1	GCGCATGGGACGT GTGAA	2 7 4	1 2 1 9 3 1	1 2 1 9 4 8	1 8 5
5 4 9 5 9 7	GGCGCATGGGACG TGTGA	2 8 4	1 2 1 9 3 2	1 2 1 9 4 9	4 7
5 1 0 1 8 5	CGGCGCATGGGAC GTGTG	2 7 6	1 2 1 9 3 3	1 2 1 9 5 0	1 8 6
6 1 7 3 9 2	ACGGCGCATGGGA CGTGT	3 0 4	1 2 1 9 3 4	1 2 1 9 5 1	1 8 7
5 1 0 1 8 6	CACGGCGCATGGG ACGTG	2 6 8	1 2 1 9 3 5	1 2 1 9 5 2	1 8 8
5 4 9 5 9 8	GCACGGCGCATGG GACGT	3 0 5	1 2 1 9 3 6	1 2 1 9 5 3	4 8
6 1 7 3 9 3	AGCACGGCGCATG GGACG	2 3 7	1 2 1 9 3 7	1 2 1 9 5 4	1 8 9
5 1 0 1 8 7	CAGCACGGCGCAT GGGAC	1 4 4	1 2 1 9 3 8	1 2 1 9 5 5	1 9 0

10

20

30

40

【表 4 - 6】

6 1 7 3 9 4	ACAGCACGGCGCA TGGGA	1 7 0	1 2 1 9 3 9	1 2 1 9 5 6	1 9 1
5 4 9 5 9 9	CACAGCACGGCGC ATGGG	1 8 3	1 2 1 9 4 0	1 2 1 9 5 7	4 9
5 4 9 6 1 9	TCCTGAGAGCCCA AGAAG	4 2	1 2 2 0 2 0	1 2 2 0 3 7	6 8
6 1 7 3 9 5	ATCCTGAGAGCCC AAGAA	3 8	1 2 2 0 2 1	1 2 2 0 3 8	1 9 2
6 1 7 3 9 6	GATCCTGAGAGCC CAAGA	4 4	1 2 2 0 2 2	1 2 2 0 3 9	1 9 3
6 1 7 3 9 7	AGATCCTGAGAGC CCAAG	3 5	1 2 2 0 2 3	1 2 2 0 4 0	1 9 4
5 4 9 6 2 0	CAGATCCTGAGAG CCCAA	3 5	1 2 2 0 2 4	1 2 2 0 4 1	6 9
6 1 7 3 9 8	CCAGATCCTGAGA GCCCA	3 9	1 2 2 0 2 5	1 2 2 0 4 2	1 9 5
6 1 7 3 9 9	GCCAGATCCTGAG AGCCC	4 7	1 2 2 0 2 6	1 2 2 0 4 3	1 9 6
6 1 7 4 0 0	AGCCAGATCCTGA GAGCC	3 8	1 2 2 0 2 7	1 2 2 0 4 4	1 9 7

10

20

30

## 【 0 2 1 4 】

実施例 3：均一な 2' - MOE 修飾オリゴヌクレオチドのヒトタウエキソン 10 への阻害効果

表 3 および 4 からいくつかの修飾オリゴヌクレオチドを選択し、生体外でのヒトタウエキソン 10 発現の阻害に対するそれらの効果をさらに評価した。ISIS 549595 を比較のために本試験に含めた。

40

## 【 0 2 1 5 】

「開始部位」は、修飾オリゴヌクレオチドが標的とする最も 5' 側のヌクレオチドを示す。「終止部位」は、修飾オリゴヌクレオチドが標的とする最も 3' 側のヌクレオチドを示す。以下の表に列記される各修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 (ヌクレオチド 9240000 ~ 9381000 から切断された GENBANK 受託番号 NT\_010783.15) を標的にする。

## 【 0 2 1 6 】

A172 細胞を、Lipofectamine 2000 (登録商標) を使用して、以下の表で特定される 0、0.1、0.3、1、3、10、または 30 nM 濃度の修飾オリゴヌクレオチドでトランスフェクトした。約 24 時間の処理期間後、RNA を細胞から単離

50

し、エキソン 10 を含有するタウ転写物の mRNA レベルを定量的リアルタイム PCR で測定した。ヒトタウプライマープロープセット 9\_\_10 R5 を使用して、ISIS 549581 以外の mRNA レベルを測定した。ヒトタウプライマープロープセット 10\_\_11 をこのオリゴヌクレオチドに使用した。RIBOGREEN (登録商標) で測定された総 RNA 含有量に従ってヒトタウエキソン 10 mRNA レベルを調整した。

【0217】

各オリゴヌクレオチドの半数阻害濃度 ( $IC_{50}$ ) を以下の表に提示し、使用されたオリゴヌクレオチドの濃度を、各濃度で達成されたヒトタウエキソン 10 mRNA 発現の阻害パーセントに対してプロットし、対照と比較してヒトタウエキソン 10 mRNA 発現の 50% 阻害が達成された時点でのオリゴヌクレオチドの濃度を記述することによって計算した。結果を以下に提示する。

【表 5】

表 5

ヒトタウエキソン10発現への均一な2'-MOE修飾オリゴヌクレオチドの阻害効果

ISIS 番号	配列	IC <sub>50</sub> (nM)	配列番号1 開始部位	配列番号1 終止部位	配列番号
5495 81	TGAGCCACACTT GGACTG	1.20	12186 8	12188 5	83
6173 54	TTGAGCCACACT TGGACT	1.39	12186 9	12188 6	143
6173 55	TTTGAGCCACAC TTGGAC	1.08	12187 0	12188 7	144
6173 56	CTTTGAGCCACA CTTGGA	0.74	12187 1	12188 8	145
5495 82	CCTTTGAGCCAC ACTTGG	0.49	12187 2	12188 9	146
6173 57	TCCTTTGAGCCA CACTTG	0.64	12187 3	12189 0	147
6173 58	ATCCTTTGAGCC ACACTT	0.44	12187 4	12189 1	148
6173 59	TATCCTTTGAGC CACACT	0.54	12187 5	12189 2	149
5495 83	TTATCCTTTGAG CCACAC	0.37	12187 6	12189 3	33
6173 60	ATTATCCTTTGA GCCACA	0.39	12187 7	12189 4	150
6173 61	TATTATCCTTTG AGCCAC	0.38	12187 8	12189 5	151
5495 95	GGACGTGTGAAG GTACTC	0.97	12192 4	12194 1	45

【0218】

実施例4：均一な2'-MOE修飾オリゴヌクレオチドのヒトタウエキソン10への阻害効果

表4からいくつかの修飾オリゴヌクレオチドを選択し、生体外でのヒトタウエキソン10発現の阻害に対するそれらの効果をさらに評価した。ISIS 549595を比較のために本試験に含めた。

10

20

30

40

50

## 【0219】

「開始部位」は、修飾オリゴヌクレオチドが標的とする最も5'側のヌクレオシドを示す。「終止部位」は、修飾オリゴヌクレオチドが標的とする最も3'側のヌクレオシドを示す。以下の表に列記される各修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1（ヌクレオチド9240000～9381000から切断されたGENBANK受託番号NT\_\_010783.15）を標的にする。

## 【0220】

A172細胞を、Lipofectamine 2000（登録商標）を使用して、以下の表で特定される0、0.1、0.3、1、3、10、または30 nM濃度の修飾オリゴヌクレオチドでトランスフェクトした。約24時間の処理期間後、RNAを細胞から単離し、エキソン10を含有するタウ転写物のmRNAレベルを定量的リアルタイムPCRで測定した。ヒトタウプライマープロベセット9\_\_10 R5を使用して、mRNAレベルを測定した。RIBOGREEN（登録商標）で測定された総RNA含有量に従ってヒトタウエキソン10 mRNAレベルを調整した。

10

## 【0221】

各オリゴヌクレオチドの $IC_{50}$ を実施例3に例証される様式と同一の様式で計算し、その結果を以下に提示する。

【表 6】

表 6

ヒトタウエキソン 10 発現への均一な 2' -MOE 修飾オリゴヌクレオチドの阻害効果

ISIS 番号	配列	IC <sub>50</sub> (nM)	配列番号 1 開始部位	配列番号 1 終止部位	配列番号
6173 62	ATATTATCCTTTG AGCCA	0.27	12187 9	12189 6	152
5495 84	GATATTATCCTTT GAGCC	0.40	12188 0	12189 7	34
5659 89	TGATATTATCCTT TGAGC	0.58	12188 1	12189 8	153
5659 90	TTGATATTATCCT TTGAG	1.23	12188 2	12189 9	154
5495 85	GTTTGATATTATC CTTTG	0.71	12188 4	12190 1	35
6173 64	GTGTTTGATATTA TCCTT	0.61	12188 6	12190 3	157
6173 65	CGTGTTTGATATT ATCCT	0.74	12188 7	12190 4	158
5495 86	ACGTGTTTGATAT TATCC	0.93	12188 8	12190 5	36
6173 67	GGACGTGTTTGAT ATTAT	0.64	12189 0	12190 7	160
5495 87	CGGGACGTGTTTG ATATT	0.97	12189 2	12190 9	37
5496 20	CAGATCCTGAGAG CCCAA	3.46	12202 4	12204 1	69
5495 95	GGACGTGTGAAGG TACTC	1.25	12192 4	12194 1	45

## 【0222】

実施例 5：均一な 2' -MOE 修飾オリゴヌクレオチドのヒトタウエキソン 10 への阻害効果

表 3 および 4 からいくつかの修飾オリゴヌクレオチドを選択し、生体外でのヒトタウエキソン 10 発現の阻害に対するそれらの効果をさらに評価した。ISIS 549595

10

20

30

40

50



を比較のために本試験に含めた。

【0223】

「開始部位」は、修飾オリゴヌクレオチドが標的とする最も5'側のヌクレオチドを示す。「終止部位」は、修飾オリゴヌクレオチドが標的とする最も3'側のヌクレオチドを示す。以下の表に列記される各修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号1（ヌクレオチド9240000～9381000から切断されたGENBANK受託番号NT\_010783.15）を標的にする。

【0224】

A172細胞を、Lipofectamine 2000（登録商標）を使用して、以下の表で特定される0、0.1、0.3、1、3、10、または30 nM濃度の修飾オリゴヌクレオチドでトランスフェクトした。約24時間の処理期間後、RNAを細胞から単離し、エキソン10を含有するタウ転写物のmRNAレベルを定量的リアルタイムPCRで測定した。ヒトタウプライマープローブセット10\_11を使用して、ISIS 549595以外のmRNAレベルを測定した。ヒトタウプライマープローブセット9\_10R5をこのオリゴヌクレオチドに使用した。RIBOGREEN（登録商標）で測定された総RNA含有量に従ってヒトタウエキソン10 mRNAレベルを調整した。

【0225】

各オリゴヌクレオチドのIC<sub>50</sub>を実施例3に例証される様式と同一の様式で計算し、その結果を以下に提示する。

【表 7】

表 7

ヒトタウエキソン10発現への均一な2'-MOE修飾オリゴヌクレオチドの阻害効果

ISIS 番号	配列	IC <sub>50</sub> (nM)	配列番号1 開始部位	配列番号1 終止部位	配列番号
5495 66	AGCCAGAAAAAAG GATGA	1.00	12180 4	12182 1	31
6173 09	CACCTTTGGTAGC CAGAA	1.11	12181 4	12183 1	97
5495 70	TAATTATCTGCAC CTTTG	1.39	12182 4	12184 1	72
6173 17	TTAATTATCTGCA CCTTT	1.26	12182 5	12184 2	106
6173 18	ATTAATTATCTGC ACCTT	1.21	12182 6	12184 3	107
6173 23	TTCTTATTAATTA TCTGC	0.96	12183 1	12184 8	112
6173 24	CTTCTTATTAATT ATCTG	1.06	12183 2	12184 9	113
6173 41	GGACGTTGCTAAG ATCCA	0.82	12185 1	12186 8	130
5495 77	TGGACGTTGCTAA GATCC	0.87	12185 2	12186 9	79
6173 51	GCCACACTTGGAC TGGAC	0.91	12186 5	12188 2	140
6173 52	AGCCACACTTGGGA CTGGA	0.79	12186 6	12188 3	141
5495 95	GGACGTGTGAAGG TACTC	0.73	12192 4	12194 1	45

## 【0226】

実施例6：均一な2'-MOE修飾オリゴヌクレオチドのヒトタウエキソン10への阻害効果

表3および4からいくつかの修飾オリゴヌクレオチドを選択し、生体外でのヒトタウエキソン10発現の阻害に対するそれらの効果をさらに評価した。ISIS 617782

10

20

30

40

50

、 6 1 7 7 8 1、および 4 1 5 8 3 3 を比較のために本試験に含めた。

【 0 2 2 7 】

「開始部位」は、修飾オリゴヌクレオチドが標的とする最も 5' 側のヌクレオチドを示す。「終止部位」は、修飾オリゴヌクレオチドが標的とする最も 3' 側のヌクレオチドを示す。以下の表に列記される各修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 (ヌクレオチド 9 2 4 0 0 0 0 ~ 9 3 8 1 0 0 0 から切断された G E N B A N K 受託番号 N T \_ 0 1 0 7 8 3 . 1 5 ) を標的にする。

【 0 2 2 8 】

I S I S 6 1 7 7 8 2 は、21ヌクレオチド長であり、各ヌクレオチドは、2' - O C H <sub>3</sub> 修飾を有し、下付き文字「m」で表示する。修飾オリゴヌクレオチドの全体の各ヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオチド間結合 ( P = S ) である。

【 0 2 2 9 】

I S I S 6 1 7 7 8 1 は、18ヌクレオチド長であり、各ヌクレオチドは、2' - O C H <sub>3</sub> 修飾を有し、下付き文字「m」で表示する。修飾オリゴヌクレオチドの全体の各ヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオチド間結合 ( P = S ) である。

【 0 2 3 0 】

I S I S 4 1 5 8 3 3 は、20ヌクレオチド長であり、各ヌクレオチドは、2' - M O E 修飾を有する。修飾オリゴヌクレオチドの全体の各ヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオチド間結合 ( P = S ) である。修飾オリゴヌクレオチドの全体のすべてのシトシン残基は、5 - メチルシトシンである。

【 0 2 3 1 】

A 1 7 2 細胞を、L i p o f e c t a m i n e 2 0 0 0 (登録商標) を使用して、以下の表で特定される 0、0.1、0.3、1、3、10、または 30 n M 濃度の修飾オリゴヌクレオチドでトランスフェクトした。約 24 時間の処理期間後、R N A を細胞から単離し、エキソン 10 を含有するタウ転写物の m R N A レベルを定量的リアルタイム P C R で測定した。ヒトタウプライマープロベセット 9 \_ 1 0 R 5 を使用して、I S I S 6 1 7 7 8 1 および 4 1 5 8 8 3 以外の m R N A レベルを測定した。ヒトタウプライマープロベセット 1 0 \_ 1 1 をこれら 2 個のオリゴヌクレオチドに使用した。R I B O G R E E N (登録商標) で測定された総 R N A 含有量に従ってヒトタウエキソン 1 0 m R N A レベルを調整した。

【 0 2 3 2 】

各オリゴヌクレオチドの I C <sub>50</sub> を実施例 3 に例証される様式と同一の様式で計算し、その結果を以下に提示する。

10

20

30

【表 8 - 1】

表 8

ヒトタウエキソン10発現への均一な2'-MOE修飾オリゴヌクレオチドの阻害効果

ISIS 番号	配列	IC <sub>50</sub> (nM)	配列番号1 開始部位	配列番号1 終止部位	配列番号
6173 57	TCCTTTGAGCCAC ACTTG	0.48	12187 3	12189 0	147
6173 58	ATCCTTTGAGCCA CACTT	0.34	12187 4	12189 1	148
6173 59	TATCCTTTGAGCC AACT	0.41	12187 5	12189 2	149
5495 83	TTATCCTTTGAGC CACAC	0.27	12187 6	12189 3	33
6173 60	ATTATCCTTTGAG CCACA	0.33	12187 7	12189 4	150
6173 61	TATTATCCTTTGA GCCAC	0.24	12187 8	12189 5	151
6173 62	ATATTATCCTTTG AGCCA	0.27	12187 9	12189 6	152
5495 84	GATATTATCCTTT GAGCC	0.19	12188 0	12189 7	34
5659 89	TGATATTATCCTT TGAGC	0.39	12188 1	12189 8	153
6177 82	U <sub>m</sub> G <sub>m</sub> A <sub>m</sub> A <sub>m</sub> G <sub>m</sub> G <sub>m</sub> U <sub>m</sub> A <sub>m</sub> C <sub>m</sub> U <sub>m</sub> C <sub>m</sub> A <sub>m</sub> C <sub>m</sub> A <sub>m</sub> C <sub>m</sub> U <sub>m</sub> G <sub>m</sub> C <sub>m</sub> C <sub>m</sub> G <sub>m</sub> C <sub>m</sub>	4.33	12191 4	12193 4	198

10

20

30

40

【表 8 - 2】

6 1 7 7 8 1	U <sub>m</sub> A <sub>m</sub> U <sub>m</sub> C <sub>m</sub> U <sub>m</sub> G <sub>m</sub> C <sub>m</sub> A <sub>m</sub> C <sub>m</sub> C <sub>m</sub> U <sub>m</sub> U <sub>m</sub> U <sub>m</sub> G <sub>m</sub> G <sub>m</sub> U <sub>m</sub> A <sub>m</sub> G <sub>m</sub>	2 0 . 2 5	1 2 1 8 2 0	1 2 1 8 3 7	1 9 9
4 1 5 8 8 3	T C T T A T T A A T T A T C T G C A C C	0 . 6 5	1 2 1 8 2 8	1 2 1 8 4 7	2 0 0

10

## 【 0 2 3 3 】

実施例 7：ヒトタウのエキソン 10 を標的とする修飾オリゴヌクレオチド

一連の修飾オリゴヌクレオチドをヒトタウのエキソン 10 を標的とするように設計した。「開始部位」は、修飾オリゴヌクレオチドが標的とする最も 5' 側のヌクレオチドを示す。「終止部位」は、修飾オリゴヌクレオチドが標的とする最も 3' 側のヌクレオチドを示す。以下の表に列記される各修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 (ヌクレオチド 9 2 4 0 0 0 0 ~ 9 3 8 1 0 0 0 から切断された G E N B A N K 受託番号 N T \_ 0 1 0 7 8 3 . 1 5 ) を標的にする。

## 【 0 2 3 4 】

20

以下の表において、「<sup>m</sup>C」は 5 - メチルシトシンを示し、下付き文字「e」は 2' - O - メトキシエチルを示し、下付き文字「f」は 2' - デオキシフルオロを示し、下付き文字「d」は 2' - デオキシを示し、下付き文字「p」はペプチド核酸モノマーを示し、下付き文字「s」はホスホロチオエートヌクレオチド間結合を示し、下付き文字「o」はホスホジエステルヌクレオチド間結合を示し、「P -」は 5' 末端のリンカー (P N A B i o , T h o u s a n d O a k s , C A ) を示し、「- N」は 3' 末端カルボキシアミドを示す。

【表 9 - 1】

表 9

ヒトタウを標的とする修飾オリゴヌクレオチド

ISI S番号	配列	配列番号1 開始部位	配列番号1 終止部位	配列番 号
549 607	$A_{es}^m C_{es} G_{es}^m C_{es} A_{es}^m C_{es} T_{es}^m C_{es}$ $A_{es}^m C_{es} A_{es}^m C_{es}^m C_{es} A_{es}^m C_{es} T_{es}$ $s T_{es}^m C_{es}$	12197 2	12198 9	201
565 985	$m C_{es} G_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} A_{es}^m C_{es} T_{es}$ $T_{es} G_{es}^m C_{es} T_{es}^m C_{es} G_{es}^m C_{es} A_{es} A_{es}$ $es G_e$	12170 6	12172 3	202
565 986	$G_{es} A_{es}^m C_{es}^m C_{es}^m C_{es} G_{es}^m C_{es}^m C_{es}$ $T_{es} A_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es} G_{es}^m C_{es} T_{es}^m C_{es}$ $es G_e$	12171 0	12172 7	203
565 987	$G_{es} A_{es}^m C_{es}^m C_{es}^m C_{es} G_{es}^m C_{es}^m C_{es}$ $T_{es} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es} G_{es}^m C_{es} T_{es}^m C_{es}$ $es G_e$	12177 0	12178 7	204
565 988	$m C_{es}^m C_{es} T_{es} G_{es} G_{es} A_{es}^m C_{es}^m C_{es}^m$ $C_{es} G_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} G_{es}^m C_{es} T_{es}$ $T_{es} G_e$	12177 4	12179 1	205
566 007	$m C_{es} G_{es} C_{fs} C_{fs} U_{fs} A_{fs} C_{fs} U_{fs} U_{fs}$ $G_{fs} C_{fs} U_{fs} C_{fs} G_{fs} C_{fs} A_{fs} A_{es} G_e$	12170 6	12172 3	206
566 012	$m C_{es}^m C_{es} U_{fs} G_{fs} G_{fs} A_{fs} C_{fs} C_{fs} C_{fs}$ $s G_{fs} C_{fs} C_{fs} U_{fs} G_{fs} C_{fs} U_{fs} T_{es} G_e$	12177 4	12179 1	207
566 013	$T_{es} G_{es} A_{fs} U_{fs} A_{fs} U_{fs} U_{fs} A_{fs} U_{fs} C_{fs}$ $C_{fs} U_{fs} U_{fs} U_{fs} G_{fs} A_{fs} G_{es}^m C_{es}$	12188 1	12189 8	208
566 014	$T_{es} T_{es} G_{fs} A_{fs} U_{fs} A_{fs} U_{fs} U_{fs} A_{fs} U_{fs}$ $fs C_{fs} C_{fs} U_{fs} U_{fs} U_{fs} G_{fs} A_{es} G_e$	12188 2	12189 9	209

10

20

30

40

【表 9 - 2】

566 015	$T_{es} \quad T_{es} \quad U_{fs} \quad G_{fs} \quad A_{fs} \quad U_{fs} \quad A_{fs}$ $s \quad U_{fs} \quad U_{fs} \quad A_{fs} \quad U_{fs} \quad C_{fs} \quad C_{fs}$ $U_{fs} \quad U_{fs} \quad U_{fs} \quad G_{es} \quad A_e$	12188 3	12190 0	210
566 016	${}^mC_{es} \quad A_{es} \quad C_{fs} \quad U_{fs} \quad U_{fs} \quad C_{fs} \quad C_{fs}$ $fs \quad U_{fs} \quad A_{fs} \quad A_{fs} \quad U_{fs} \quad A_{fs} \quad A_{fs}$ $U_{fs} \quad U_{fs} \quad C_{fs} \quad A_{es} \quad A_e$	12196 0	12197 7	211
566 017	$A_{es} \quad {}^mC_{es} \quad A_{fs} \quad C_{fs} \quad C_{fs} \quad A_{fs} \quad C_{fs}$ $fs \quad U_{fs} \quad U_{fs} \quad C_{fs} \quad C_{fs} \quad U_{fs} \quad A_{fs}$ $A_{fs} \quad U_{fs} \quad A_{fs} \quad A_{es} \quad T_e$	12196 4	12198 1	212
566 018	$A_{es} \quad {}^mC_{es} \quad U_{fs} \quad C_{fs} \quad A_{fs} \quad C_{fs} \quad A_{fs}$ $fs \quad C_{fs} \quad C_{fs} \quad A_{fs} \quad C_{fs} \quad U_{fs} \quad U_{fs}$ $C_{fs} \quad C_{fs} \quad U_{fs} \quad A_{es} \quad A_e$	12196 8	12198 5	213
568 409	${}^mC_{es} \quad {}^mC_{es} \quad C_{fs} \quad G_{fs} \quad C_{fs} \quad C_{fs} \quad C_{fs}$ $U_{fs} \quad A_{fs} \quad C_{fs} \quad U_{fs} \quad U_{fs} \quad G_{fs} \quad C_{fs}$ $s \quad U_{fs} \quad C_{fs} \quad G_{fs} \quad {}^mC_{es} \quad A_e$	12170 8	12172 5	214
568 410	$G_{es} \quad A_{es} \quad C_{fs} \quad C_{fs} \quad C_{fs} \quad G_{fs} \quad C_{fs}$ $s \quad C_{fs} \quad U_{fs} \quad A_{fs} \quad C_{fs} \quad U_{fs} \quad U_{fs}$ $G_{fs} \quad C_{fs} \quad U_{fs} \quad {}^mC_{es} \quad G_e$	12171 0	12172 7	215
568 411	$G_{es} \quad A_{es} \quad C_{fs} \quad C_{fs} \quad C_{fs} \quad G_{fs} \quad C_{fs}$ $s \quad C_{fs} \quad U_{fs} \quad G_{fs} \quad C_{fs} \quad U_{fs} \quad U_{fs}$ $G_{fs} \quad C_{fs} \quad U_{fs} \quad {}^mC_{es} \quad G_e$	12177 0	12178 7	216
568 412	$T_{es} \quad G_{es} \quad G_{fs} \quad A_{fs} \quad C_{fs} \quad C_{fs} \quad C_{fs}$ $s \quad G_{fs} \quad C_{fs} \quad C_{fs} \quad U_{fs} \quad G_{fs} \quad C_{fs}$ $U_{fs} \quad U_{fs} \quad G_{fs} \quad {}^mC_{es} \quad T_e$	12177 2	12178 9	217
624 464	$U_{ms} \quad C_{ms} \quad U_{ms} \quad U_{ms} \quad A_{ms} \quad U_{ms} \quad U_{ms}$ $s \quad A_{ms} \quad A_{ms} \quad U_{ms} \quad U_{ms} \quad A_{ms} \quad U_{ms}$ $C_{ms} \quad U_{ms} \quad G_{ms} \quad C_{ms} \quad A_{ms} \quad C_{ms} \quad C_m$	12182 8	12184 7	218

10

20

30

40

【表 9 - 3】

6 2 4 4 6 5	$T_{ks} \quad {}^mC_{ds} \quad T_{ds} \quad T_{ks} \quad A_{ds} \quad T_{ds} \quad T_{ks}$ $A_{ds} \quad A_{ds} \quad T_{ks} \quad T_{ds} \quad A_{ds} \quad T_{ks}$ ${}^mC_{ds} \quad T_{ds} \quad G_{ks} \quad {}^mC_{ds} \quad A_{ds} \quad {}^mC_{ks}$ ${}^mC_k$	1 2 1 8 2 8	1 2 1 8 4 7	2 0 0
6 2 4 4 6 6	$T_{ks} \quad {}^mC_{es} \quad T_{es} \quad T_{ks} \quad A_{es} \quad T_{es} \quad T_{ks}$ $A_{es} \quad A_{es} \quad T_{ks} \quad T_{es} \quad A_{es} \quad T_{ks}$ ${}^mC_{es} \quad T_{es} \quad G_{ks} \quad {}^mC_{es} \quad A_{es} \quad {}^mC_{ks}$ ${}^mC_k$	1 2 1 8 2 8	1 2 1 8 4 7	2 0 0
6 2 4 4 6 7	$T_{ks} \quad {}^mC_{es} \quad T_{es} \quad T_{ko} \quad A_{es} \quad T_{es} \quad T_{ks}$ $A_{es} \quad A_{es} \quad T_{ko} \quad T_{es} \quad A_{es} \quad T_{ko}$ ${}^mC_{es} \quad T_{es} \quad G_{ko} \quad {}^mC_{es} \quad A_{es} \quad {}^mC_{ks}$ ${}^mC_k$	1 2 1 8 2 8	1 2 1 8 4 7	2 0 0
6 2 4 4 6 8	$T_{ks} \quad {}^mC_{ds} \quad T_{ds} \quad T_{ko} \quad A_{ds} \quad T_{ds} \quad T_{ks}$ $A_{ds} \quad A_{ds} \quad T_{ko} \quad T_{ds} \quad A_{ds} \quad T_{ko}$ ${}^mC_{ds} \quad T_{ds} \quad G_{ko} \quad {}^mC_{ds} \quad A_{ds} \quad {}^mC_{ks}$ ${}^mC_k$	1 2 1 8 2 8	1 2 1 8 4 7	2 0 0
6 2 6 8 8 1	$P-T_p \quad C_p \quad T_p \quad T_p \quad A_p \quad T_p \quad T_p$ $A_p \quad A_p \quad T_p \quad T_p \quad A_p \quad T_p \quad C_p \quad T_p$ $G_p \quad C_p \quad A_p \quad C_p \quad C_p-N$	1 2 1 8 2 8	1 2 1 8 4 7	2 0 0
6 7 0 0 1 1	$G_{es} \quad G_{es} \quad A_{eo} \quad {}^mC_{es} \quad G_{eo} \quad T_{es} \quad T_{eo}$ ${}_{eo} \quad G_{es} \quad {}^mC_{eo} \quad T_{es} \quad A_{eo} \quad A_{es} \quad G_e$ ${}_o \quad A_{es} \quad T_{eo} \quad {}^mC_{es} \quad {}^mC_{es} \quad A_e$	1 2 1 8 5 1	1 2 1 8 6 8	1 3 0
6 7 0 0 1 2	${}^mC_{es} \quad {}^mC_{es} \quad T_{eo} \quad T_{es} \quad T_{eo} \quad G_{es}$ $A_{eo} \quad G_{es} \quad {}^mC_{eo} \quad {}^mC_{es} \quad A_{eo} \quad {}^mC_{es}$ $A_{eo} \quad {}^mC_{es} \quad T_{eo} \quad T_{es} \quad G_{es} \quad G_e$	1 2 1 8 7 2	1 2 1 8 8 9	1 4 6
6 7 0 0 1 3	$A_{es} \quad T_{es} \quad {}^mC_{eo} \quad {}^mC_{es} \quad T_{eo} \quad T_{es}$ $T_{eo} \quad G_{es} \quad A_{eo} \quad G_{es} \quad {}^mC_{eo} \quad {}^mC_{es}$ $A_{eo} \quad {}^mC_{es} \quad A_{eo} \quad {}^mC_{es} \quad T_{es} \quad T_e$	1 2 1 8 7 4	1 2 1 8 9 1	1 4 8

10

20

30

40



【表 9 - 4】

670 014	$T_{es} \quad T_{es} \quad A_{eo} \quad T_{es} \quad mC_{eo} \quad mC_{es}$ $T_{eo} \quad T_{es} \quad T_{eo} \quad G_{es} \quad A_{eo} \quad G_{es} \quad mC_{eo}$ $eo \quad mC_{es} \quad A_{eo} \quad mC_{es} \quad A_{es} \quad mC_e$	12187 6	12189 3	33
670 015	$A_{es} \quad T_{es} \quad T_{eo} \quad A_{es} \quad T_{eo} \quad mC_{es} \quad m$ $C_{eo} \quad T_{es} \quad T_{eo} \quad T_{es} \quad G_{eo} \quad A_{es} \quad G_e$ $o \quad mC_{es} \quad mC_{eo} \quad A_{es} \quad mC_{es} \quad A_e$	12187 7	12189 4	150
670 016	$T_{es} \quad A_{es} \quad T_{eo} \quad T_{es} \quad A_{eo} \quad T_{es} \quad mC_{eo}$ $eo \quad mC_{es} \quad T_{eo} \quad T_{es} \quad T_{eo} \quad G_{es} \quad A_e$ $o \quad G_{es} \quad mC_{eo} \quad mC_{es} \quad A_{es} \quad mC_e$	12187 8	12189 5	151
670 017	$A_{es} \quad T_{es} \quad A_{eo} \quad T_{es} \quad T_{eo} \quad A_{es} \quad T_e$ $o \quad mC_{es} \quad mC_{eo} \quad T_{es} \quad T_{eo} \quad T_{es} \quad G_e$ $o \quad A_{es} \quad G_{eo} \quad mC_{es} \quad mC_{es} \quad A_e$	12187 9	12189 6	152
670 018	$G_{es} \quad A_{es} \quad T_{eo} \quad A_{es} \quad T_{eo} \quad T_{es} \quad A_e$ $o \quad T_{es} \quad mC_{eo} \quad mC_{es} \quad T_{eo} \quad T_{es} \quad T_e$ $o \quad G_{es} \quad A_{eo} \quad G_{es} \quad mC_{es} \quad mC_e$	12188 0	12189 7	34
670 019	$G_{es} \quad T_{es} \quad T_{eo} \quad T_{es} \quad G_{eo} \quad A_{es} \quad T_e$ $o \quad A_{es} \quad T_{eo} \quad T_{es} \quad A_{eo} \quad T_{es} \quad mC_{eo}$ $mC_{es} \quad T_{eo} \quad T_{es} \quad T_{es} \quad G_e$	12188 4	12190 1	35
670 020	$G_{es} \quad G_{eo} \quad A_{eo} \quad mC_{eo} \quad G_{es} \quad T_{es} \quad T$ $es \quad G_{es} \quad mC_{es} \quad T_{es} \quad A_{es} \quad A_{es} \quad G_e$ $o \quad A_{eo} \quad T_{eo} \quad mC_{es} \quad mC_{es} \quad A_e$	12185 1	12186 8	130
670 021	$mC_{es} \quad mC_{eo} \quad T_{eo} \quad T_{eo} \quad T_{es} \quad G_{es}$ $A_{es} \quad G_{es} \quad mC_{es} \quad mC_{es} \quad A_{es} \quad mC_{es}$ $A_{eo} \quad mC_{eo} \quad T_{eo} \quad T_{es} \quad G_{es} \quad G_e$	12187 2	12188 9	146
670 022	$A_{es} \quad T_{eo} \quad mC_{eo} \quad mC_{eo} \quad T_{es} \quad T_{es}$ $T_{es} \quad G_{es} \quad A_{es} \quad G_{es} \quad mC_{es} \quad mC_{es}$ $A_{eo} \quad mC_{eo} \quad A_{eo} \quad mC_{es} \quad T_{es} \quad T_e$	12187 4	12189 1	148

10

20

30

40

【表 9 - 5】

670 023	$T_{es} \quad T_{eo} \quad A_{eo} \quad T_{eo} \quad {}^mC_{es} \quad {}^mC_{es}$ $T_{es} \quad T_{es} \quad T_{es} \quad G_{es} \quad A_{es} \quad G_{es} \quad {}^mC_{eo}$ ${}^mC_{eo} \quad A_{eo} \quad {}^mC_{es} \quad A_{es} \quad {}^mC_e$	12187 6	12189 3	33
670 024	$A_{es} \quad T_{eo} \quad T_{eo} \quad A_{eo} \quad T_{es} \quad {}^mC_{es} \quad {}^mC_{eo}$ $C_{es} \quad T_{es} \quad T_{es} \quad T_{es} \quad G_{es} \quad A_{es} \quad G_e$ ${}^mC_{eo} \quad {}^mC_{eo} \quad A_{es} \quad {}^mC_{es} \quad A_e$	12187 7	12189 4	150
670 025	$T_{es} \quad A_{eo} \quad T_{eo} \quad T_{eo} \quad A_{es} \quad T_{es} \quad {}^mC_{eo}$ ${}^mC_{es} \quad T_{es} \quad T_{es} \quad T_{es} \quad G_{es} \quad A_e$ ${}^mC_{eo} \quad G_{eo} \quad {}^mC_{eo} \quad {}^mC_{es} \quad A_{es} \quad {}^mC_e$	12187 8	12189 5	151
670 026	$A_{es} \quad T_{eo} \quad A_{eo} \quad T_{eo} \quad T_{es} \quad A_{es} \quad T_e$ ${}^mC_{es} \quad {}^mC_{es} \quad T_{es} \quad T_{es} \quad T_{es} \quad G_e$ ${}^mC_{eo} \quad A_{eo} \quad G_{eo} \quad {}^mC_{es} \quad {}^mC_{es} \quad A_e$	12187 9	12189 6	152
670 027	$G_{es} \quad A_{eo} \quad T_{eo} \quad A_{eo} \quad T_{es} \quad T_{es} \quad A_e$ ${}^mC_{es} \quad {}^mC_{es} \quad T_{es} \quad T_{es} \quad T_e$ ${}^mC_{eo} \quad G_{eo} \quad A_{eo} \quad G_{es} \quad {}^mC_{es} \quad {}^mC_e$	12188 0	12189 7	34
670 028	$G_{es} \quad T_{eo} \quad T_{eo} \quad T_{eo} \quad G_{es} \quad A_{es} \quad T_e$ ${}^mC_{es} \quad A_{es} \quad T_{es} \quad T_{es} \quad A_{es} \quad T_{es} \quad {}^mC_{eo}$ ${}^mC_{eo} \quad T_{eo} \quad T_{es} \quad T_{es} \quad G_e$	12188 4	12190 1	35
678 329	$G_{es} \quad {}^mC_{es} \quad {}^mC_{eo} \quad A_{es} \quad {}^mC_{eo} \quad A_{es}$ ${}^mC_{eo} \quad T_{es} \quad T_{eo} \quad G_{es} \quad G_{eo} \quad A_{es} \quad {}^mC_{eo}$ $C_{eo} \quad T_{es} \quad G_{eo} \quad G_{es} \quad A_{es} \quad {}^mC_e$	12186 5	12188 2	140
678 330	$A_{es} \quad G_{es} \quad {}^mC_{eo} \quad {}^mC_{es} \quad A_{eo} \quad {}^mC_{es}$ $A_{eo} \quad {}^mC_{es} \quad T_{eo} \quad T_{es} \quad G_{eo} \quad G_{es} \quad A_e$ ${}^mC_{eo} \quad {}^mC_{es} \quad T_{eo} \quad G_{es} \quad G_{es} \quad A_e$	12186 6	12188 3	141
678 331	$T_{es} \quad G_{es} \quad A_{eo} \quad G_{es} \quad {}^mC_{eo} \quad {}^mC_{es}$ $A_{eo} \quad {}^mC_{es} \quad A_{eo} \quad {}^mC_{es} \quad T_{eo} \quad T_{es}$ $G_{eo} \quad G_{es} \quad A_{eo} \quad {}^mC_{es} \quad T_{es} \quad G_e$	12186 8	12188 5	83

10

20

30

40

【表 9 - 6】

6 7 8 3 3 2	$G_{es} \ mC_{eo} \ mC_{eo} \ A_{eo} \ mC_{es} \ A_{es}$ $mC_{es} \ T_{es} \ T_{es} \ G_{es} \ G_{es} \ A_{es} \ m$ $C_{eo} \ T_{eo} \ G_{eo} \ G_{es} \ A_{es} \ mC_e$	1 2 1 8 6 5	1 2 1 8 8 2	1 4 0
6 7 8 3 3 3	$A_{es} \ G_{eo} \ mC_{eo} \ mC_{eo} \ A_{es} \ mC_{es}$ $A_{es} \ mC_{es} \ T_{es} \ T_{es} \ G_{es} \ G_{es} \ A$ $eo \ mC_{eo} \ T_{eo} \ G_{es} \ G_{es} \ A_e$	1 2 1 8 6 6	1 2 1 8 8 3	1 4 1
6 7 8 3 3 4	$T_{es} \ G_{eo} \ A_{eo} \ G_{eo} \ mC_{es} \ mC_{es}$ $A_{es} \ mC_{es} \ A_{es} \ mC_{es} \ T_{es} \ T_{es}$ $G_{eo} \ G_{eo} \ A_{eo} \ mC_{es} \ T_{es} \ G_e$	1 2 1 8 6 8	1 2 1 8 8 5	8 3
6 9 3 8 4 0	$T_{es} \ G_{es} \ G_{eo} \ A_{es} \ mC_{eo} \ G_{es} \ T$ $eo \ T_{es} \ G_{eo} \ mC_{es} \ T_{eo} \ A_{es} \ A_e$ $o \ G_{es} \ A_{eo} \ T_{es} \ mC_{es} \ mC_e$	1 2 1 8 5 2	1 2 1 8 6 9	7 9
6 9 3 8 4 1	$mC_{es} \ mC_{es} \ A_{eo} \ mC_{es} \ A_{eo} \ mC_{es}$ $T_{eo} \ T_{es} \ G_{eo} \ G_{es} \ A_{eo} \ mC_{es} \ T$ $eo \ G_{es} \ G_{eo} \ A_{es} \ mC_{es} \ G_e$	1 2 1 8 6 4	1 2 1 8 8 1	8 2
6 9 3 8 4 2	$A_{es} \ mC_{es} \ G_{eo} \ T_{es} \ G_{eo} \ T_{es} \ T$ $eo \ T_{es} \ G_{eo} \ A_{es} \ T_{eo} \ A_{es} \ T_{eo}$ $T_{es} \ A_{eo} \ T_{es} \ mC_{es} \ mC_e$	1 2 1 8 8 8	1 2 1 9 0 5	3 6
6 9 3 8 4 3	$G_{es} \ G_{es} \ A_{eo} \ mC_{es} \ G_{eo} \ T_{es} \ G$ $eo \ T_{es} \ G_{eo} \ A_{es} \ A_{eo} \ G_{es} \ G_{eo}$ $T_{es} \ A_{eo} \ mC_{es} \ T_{es} \ mC_e$	1 2 1 9 2 4	1 2 1 9 4 1	4 5
6 9 3 8 4 4	$G_{es} \ A_{es} \ G_{eo} \ mC_{es} \ mC_{eo} \ A_{es}$ $mC_{eo} \ A_{es} \ mC_{eo} \ T_{es} \ T_{eo} \ G_{es}$ $G_{eo} \ A_{es} \ mC_{eo} \ T_{es} \ G_{es} \ G_e$	1 2 1 8 6 7	1 2 1 8 8 4	1 4 2
6 9 3 8 4 5	$T_{es} \ G_{eo} \ G_{eo} \ A_{eo} \ mC_{es} \ G_{es} \ T$ $es \ T_{es} \ G_{es} \ mC_{es} \ T_{es} \ A_{es} \ A_e$ $o \ G_{eo} \ A_{eo} \ T_{es} \ mC_{es} \ mC_e$	1 2 1 8 5 2	1 2 1 8 6 9	7 9

10

20

30

40

【表 9 - 7】

6 9 3 8 4 6	$mC_{es} \quad mC_{eo} \quad A_{eo} \quad mC_{eo} \quad A_{es} \quad mC_{es}$ $T_{es} \quad T_{es} \quad G_{es} \quad G_{es} \quad A_{es} \quad mC_{es} \quad T$ $eo \quad G_{eo} \quad G_{eo} \quad A_{es} \quad mC_{es} \quad G_e$	1 2 1 8 6 4	1 2 1 8 8 1	8 2
6 9 3 8 4 7	$A_{es} \quad mC_{eo} \quad G_{eo} \quad T_{eo} \quad G_{es} \quad T_{es} \quad T$ $es \quad T_{es} \quad G_{es} \quad A_{es} \quad T_{es} \quad A_{es} \quad T_{eo}$ $T_{eo} \quad A_{eo} \quad T_{es} \quad mC_{es} \quad mC_e$	1 2 1 8 8 8	1 2 1 9 0 5	3 6
6 9 3 8 4 8	$G_{es} \quad G_{eo} \quad A_{eo} \quad mC_{eo} \quad G_{es} \quad T_{es} \quad G$ $es \quad T_{es} \quad G_{es} \quad A_{es} \quad A_{es} \quad G_{es} \quad G_{eo}$ $T_{eo} \quad A_{eo} \quad mC_{es} \quad T_{es} \quad mC_e$	1 2 1 9 2 4	1 2 1 9 4 1	4 5
6 9 3 8 4 9	$G_{es} \quad A_{eo} \quad G_{eo} \quad mC_{eo} \quad mC_{es} \quad A_{es}$ $mC_{es} \quad A_{es} \quad mC_{es} \quad T_{es} \quad T_{es} \quad G_{es}$ $G_{eo} \quad A_{eo} \quad mC_{eo} \quad T_{es} \quad G_{es} \quad G_e$	1 2 1 8 6 7	1 2 1 8 8 4	1 4 2

10

20

## 【 0 2 3 5 】

実施例 8：ヒトタウエキソン 10 を標的とするオリゴヌクレオチドの生体内分析

Sprague Dawley ラットを、表 1 1 に提示される実験用に 3 匹のラットの群、また表 1 2 に提示される実験用に 2 もしくは 4 匹のラットの群に分けた。各ラットの群の各ラットに、表 3、4、または 9 から選択されるオリゴヌクレオチドの単回 3 mg の髄腔内 (IT) 用量を投与した。注射後、3 時間～8 週間の様々な時点で、各ラットの 7 つの異なる身体部位の動きを評価した。7 つの身体部位は、(1) ラットの尾、(2) ラットの後方姿勢、(3) ラットの後肢、(4) ラットの後足、(5) ラットの前足、(6) ラットの前方姿勢、および (7) ラットの頭部である。7 つの異なる身体部位の各々に対して、それぞれのラットに、身体部位が動いた場合は 0、または身体部位が麻痺していた場合は 1 のサブスコアを与えた。7 つの身体部位の各々を評価した後、各ラットに対するサブスコアを要約し、次いで、各群に関して平均化した。例えば、ラットの尾、頭部、およびすべての他の評価された身体部位が、3 mg の IT 投与の 3 時間後に動いていた場合、合計 0 のスコアを得ることになる。別のラットが、3 mg の IT 投与の 3 時間後、その尾を動かさなかったが、すべての他の評価された身体部位が動いていた場合、1 のスコアを得ることになる。生理食塩水で処理されたラットは、概して、0 のスコアを得る。その範囲の上端のスコアは、毒性を示唆する。結果を各処理群に対する平均スコアとして表 1 1 および 1 2 に提示する。

30

40

【表 10 - 1】

表 11  
3mg の IT ポーラス生体内試験

ISI S 番号	注射 3 時間後のス コア	注射 2 週間後のス コア	注射 8 週間後のス コア	配列番 号
670 020	1. 0	2. 7	2. 7	130
670 011	2. 3	2. 3	2. 3	130
617 341	3. 0	0. 0	0. 0	130
678 329	2. 3	0. 0	0. 0	140
678 332	3. 0	0. 0	1. 3	140
617 351	7. 0	0. 0	4. 0	140
678 330	2. 7	2. 3	3. 0	141
678 333	2. 7	2. 3	2. 3	141
617 352	7. 0	0. 0	2. 0	141
678 331	3. 0	0. 0	0. 0	83
678	4. 3	2. 3	2. 3	83

10

20

30

40

【表 10 - 2】

3 3 4				
5 4 9 5 8 1	7. 0	0. 0	0. 3	8 3
6 7 0 0 1 2	2. 7	0. 0	0. 0	1 4 6
6 7 0 0 2 1	3. 0	0. 0	1. 0	1 4 6
5 4 9 5 8 2	4. 3	0. 0	0. 0	1 4 6
6 7 0 0 1 3	0. 3	2. 3	2. 3	1 4 8
6 7 0 0 2 2	2. 0	2. 3	3. 0	1 4 8
6 1 7 3 5 8	3. 7	0. 0	1. 3	1 4 8
6 7 0 0 1 4	0. 0	0. 0	0. 0	3 3
6 7 0 0 2 3	2. 0	1. 0	0. 3	3 3
5 4 9 5 8 3	2. 3	0. 0	0. 0	3 3
6 7 0 0 1 5	1. 0	2. 0	0. 7	1 5 0

10

20

30

40

【表 10 - 3】

6 7 0 0 2 4	1. 0	0. 7	0. 0	1 5 0
6 1 7 3 6 0	5. 3	0. 0	1. 0	1 5 0
6 7 0 0 2 5	0. 3	5. 3	5. 3	1 5 1
6 7 0 0 1 6	2. 3	1. 3	1. 7	1 5 1
6 1 7 3 6 1	3. 0	0. 0	0. 3	1 5 1
6 7 0 0 1 7	0. 0	1. 7	1. 3	1 5 2
6 7 0 0 2 6	1. 0	3. 7	3. 3	1 5 2
6 1 7 3 6 2	4. 7	3. 7	2. 7	1 5 2
6 7 0 0 1 8	0. 3	0. 3	0. 3	3 4
6 7 0 0 2 7	1. 0	0. 7	0. 7	3 4
5 4 9 5 8 4	5. 0	2. 7	3. 7	3 4
6 7 0 0 2 8	2. 0	0. 0	0. 0	3 5

10

20

30

40

【表 1 0 - 4】

6 7 0 0 1 9	3. 0	0. 0	0. 0	3 5
5 4 9 5 8 5	4. 7	5. 3	7. 0	3 5



【表 1 1 - 1】

表 1 2  
3 mg の I T ボーラス生体内試験

I S I S 番号	処理群のラットの数	注射 3 時間後のスコア	配列番号
5 4 9 5 7 7	4	3 . 3	7 9
6 9 3 8 4 0	4	1 . 8	7 9
6 9 3 8 4 5	4	0 . 0	7 9
5 4 9 5 8 0	4	7 . 0	8 2
6 9 3 8 4 1	4	1 . 8	8 2
6 9 3 8 4 6	4	2 . 5	8 2
6 1 7 3 5 3	4	7 . 0	1 4 2
6 9 3 8 4 4	2	3 . 5	1 4 2
6 9 3	4	5 . 0	1 4 2

10

20

30

40

【表 1 1 - 2】

8 4 9			
5 4 9 5 8 2	4	4. 3	1 4 6
5 4 9 5 8 6	4	5. 0	3 6
6 9 3 8 4 7	2	1. 0	3 6
5 4 9 5 9 5	4	6. 5	4 5
6 9 3 8 4 3	2	2. 0	4 5
6 9 3 8 4 8	2	7. 0	4 5

10

20

30

## 【 0 2 3 6 】

実施例 9：ヒトタウエキソン 10 を標的とする修飾オリゴヌクレオチドの生体内阻害効果

B6 . C g - M a p t t m 1 ( E G F P ) K l t T g ( M A P T ) 8 c P d a v / J マウス ( The Jackson Laboratory ) は、ヒトタウの 3 R および 4 R アイソフォームを発現する。このマウスモデルにおける、表 3、4、または 8 から選択されたオリゴヌクレオチドの 4 R アイソフォームから 3 R アイソフォームへのシフトに対する効果を評価した。

## 【 0 2 3 7 】

4 匹の B6 . C g - M a p t t m 1 ( E G F P ) K l t T g ( M A P T ) 8 c P d a v / J マウス ( 月齢 3 ~ 4 ヶ月 ) の群に、脳室内 ( I C V ) ポーラス注射を介して 5 0 0 μ g のオリゴヌクレオチドを投与した。4 匹のマウスの対照群を、同様に P B S で処理した。投与の 2 週間後、動物を屠殺し、RNA を大脳皮質、海馬、および / または脊髄から抽出した。4 R アイソフォームおよび全ヒトタウの mRNA 発現を q R T - P C R で分析した。4 R アイソフォームをプライマープロベセット h タウ 9 \_ 1 0 接合部 ( 順方向配列 5 ' - C A C T G A G A A C C T G A A G C A C C - 3 '、配列番号 2 1 9 ; 逆方向配列 5 ' - G T T G C T A A G A T C C A G C T T C T T - 3 '、配列番号 2 2 0 ; プロブ配列 5 ' - T T A A T T A T C T G C A C C T T C C C G C C T C C - 3 '、配列番号 2 2 1 ) またはプライマープロベセット h タウ 1 0 \_ 1 1 接合部 ( 順方向配列 5 ' - A A T A T C A A A C A C G T C C C G G G A G - 3 '、配列番号 2 2 2 ; 逆方向配列 5 ' 40

50

- T G C C T A A T G A G C C A C A C T T G - 3 '、配列番号 2 2 3 ; プローブ配列 5 ' - G T C T A C A A A C C A G T T G A C C T G A G C - 3 '、配列番号 2 2 4 ) を使用して分析した。全タウを、プライマー-プローブセット R T S 3 1 0 4 ( 順方向配列 5 ' - A A G A T T G G G T C C C T G G A C A A T - 3 '、配列番号 2 2 5 ; 逆方向配列 5 ' - A G C T T G T G G G T T T C A A T C T T T T T A T T - 3 '、配列番号 2 2 6 ; プローブ配列 5 ' - C A C C C A C G T C C C T G G C G G A - 3 '、配列番号 2 2 7 ) を使用して分析した。4 R アイソフォーム対全タウ m R N A レベル比を、プライマー-プローブセット m G a p d h \_ L T S 0 0 1 0 2 ( 順方向配列 5 ' - G G C A A A T T C A A C G G C A C A G T - 3 '、配列番号 2 2 8 ; 逆方向配列 5 ' - G G G T C T C G C T C C T G G A A G A T - 3 '、配列番号 2 2 9 ; プローブ配列 5 ' - A A G G C C G A G A A T G G G A A G C T T G T C A T C - 3 '、配列番号 2 3 0 ) を使用して、分析したマウスの G A P D H レベルに規準化した。結果を表 1 3 ~ 1 5 に、P B S 群の平均比で割った各処理群の G A P D H レベルに規準化された 4 R アイソフォーム対全タウ m R N A の平均比として提示する。「N D」は、データがないことを示す。

#### 【 0 2 3 8 】

また、皮質、海馬、および / または脊髄における A I F 1 の発現レベルを決定するため、R T - P C T を実行することによって炎症も評価した。すべての試料を G A D P H に規準化した後、各処理群の平均 A I F 1 値を P B S 対照群の平均 A I F 1 値で割った。結果を表 1 3 ~ 1 5 に提示する。

【表 1 2 - 1】

表 1 3

トランスジェニックマウスにおけるタウエキソン10スキッピングへの修飾オリゴヌクレ  
オチドの効果

IS IS 番号	4R 皮 質	4R 海 馬	4R 脊 髄	AIF1 皮質	AIF1 海馬	AIF1 脊髄	配列 番号
41 58 83	0.50	0.46	0.56	1.35	1.27	1.44	20 0
54 95 66	0.54	0.54	0.66	1.09	1.13	1.46	31
54 95 70	0.58	0.60	0.64	1.17	1.16	1.39	72
54 95 77	0.25	0.30	0.38	2.92	3.27	4.39	79
54 95 81	0.25	ND	ND	1.04	1.07	1.40	83

10

20

30

40

【表 1 2 - 2】

5 4 9 5 8 2	0 . 0 7	0 . 1 0	0 . 1 2	0 . 8 9	0 . 9 5	1 . 1 5	1 4 6
5 4 9 5 8 3	0 . 2 5	0 . 2 6	0 . 2 5	0 . 9 7	0 . 9 4	1 . 0 9	3 3
6 1 7 3 0 9	0 . 3 6	0 . 3 6	0 . 5 1	1 . 0 6	1 . 0 6	1 . 0 9	9 7

10

20

## 【表 13 - 1】

表 14

トランスジェニックマウスにおけるタウエキソン10スキッピングへの修飾オリゴヌクレ  
オチドの効果

ISI S番号	4R 皮質	4R 海馬	4R 脊髄	AIF1 脊髄	配列 番号
549 582	0.21	0.21	0.23	0.97	14 6
549 584	0.32	0.28	0.28	1.12	34
549 585	0.30	0.27	0.30	1.05	35
565 989	0.36	0.32	0.36	1.03	15 3
565 990	0.50	0.46	0.53	0.97	15 4
617 341	0.25	0.28	0.28	1.16	13 0
617 351	0.13	0.18	0.14	1.01	14 0
617 352	0.09	0.13	0.09	1.06	14 1

10

20

30

40

【表 1 3 - 2】

6 1 7 3 5 4	0. 3 1	ND	ND	1. 2 1	1 4 3
6 1 7 3 5 5	0. 4 3	0. 5 0	0. 3 7	1. 1 8	1 4 4
6 1 7 3 5 6	0. 3 0	0. 4 0	0. 4 9	0. 9 8	1 4 5
6 1 7 3 5 7	0. 3 3	0. 3 3	0. 2 7	1. 3 1	1 4 7
6 1 7 3 5 8	0. 2 7	0. 2 7	0. 3 4	1. 1 2	1 4 8
6 1 7 3 5 9	0. 3 2	0. 3 2	0. 3 7	0. 9 5	1 4 9
6 1 7 3 6 0	0. 2 1	0. 1 9	0. 2 9	1. 1 9	1 5 0
6 1 7 3 6 1	0. 2 6	0. 2 1	0. 3 7	1. 0 4	1 5 1
6 1 7 3 6 2	0. 2 6	0. 2 7	0. 3 4	0. 9 0	1 5 2
6 1 7 3 6 4	0. 3 9	0. 3 3	0. 4 3	1. 0 9	1 5 7

10

20

30

40

【表 1 4 - 1】

表 1 5

トランスジェニックマウスにおけるタウエキソン 1 0 スキッピングへの修飾オリゴヌクレ  
オチドの効果

I S I S 番号	4 R 皮質	4 R 海馬	4 R 脊髄	A I F 1 皮質	A I F 1 脊髄	配列 番号
5 4 9 5 8 2	0 . 2 6	0 . 3 4	0 . 2 9	0 . 7 4	1 . 0 3	1 4 6
5 4 9 5 8 6	0 . 2 5	0 . 4 3	0 . 3 8	0 . 9 7	0 . 9 8	3 6
5 4 9 5 8 7	0 . 3 9	0 . 4 7	0 . 4 6	0 . 9 6	1 . 1 7	3 7
5 4 9 5 9 5	0 . 2 7	0 . 3 9	0 . 3 9	0 . 8 4	0 . 9 2	4 5
6 1 7 3 1 7	0 . 6 2	0 . 8 3	0 . 5 3	0 . 8 8	1 . 0 5	1 0 6

10

20

30

40



【表 1 4 - 2】

6 1 7 3 1 8	0. 5 7	0. 6 9	0. 4 9	0. 9 4	1. 0 6	1 0 7
6 1 7 3 2 3	0. 6 0	0. 8 2	0. 4 9	0. 9 2	1. 1 0	1 1 2
6 1 7 3 2 4	0. 7 2	0. 8 8	0. 4 9	0. 7 0	1. 0 3	1 1 3
6 1 7 3 6 5	0. 3 1	0. 4 2	0. 2 7	0. 7 9	0. 8 7	1 5 8
6 1 7 3 6 7	0. 3 9	0. 4 6	0. 3 5	0. 9 0	1. 2 9	1 6 0

10

20

30

## 【 0 2 3 9 】

実施例 1 0 : ヒトタウエキソン 1 0 スキッピングへの混合骨格オリゴヌクレオチドの生体内効果

4 匹の B 6 . C g - M a p t t m 1 ( E G F P ) K 1 t T g ( M A P T ) 8 c P d a v / J マウス ( 実施例 9 を参照のこと ) の群に、 I C V ボーラス注射を介して表 3、 4、 もしくは 9 から選択される 1 2 5 μ g のオリゴヌクレオチドまたは P B S を投与した。投与の 2 週間後、動物を屠殺して、 R N A を大脳皮質および / または海馬から抽出し、実施例 9 に記載されるように分析した。結果を表 1 6 および 1 7 に、各処理群の P B S に規準化された 4 R アイソフォーム対全タウ m R N A の平均比として提示する。

40

## 【 0 2 4 0 】

R T - P C T を実行することによって、炎症の尺度としてアログラフト炎症因子 ( A I F 1 ) の発現を試験し、皮質および脊髄における A I F 1 の発現レベルを決定した。すべての試料を G A D P H に規準化した後、各処理群の平均 A I F 1 値を P B S 対照群の平均 A I F 1 値で割った。結果を表 1 6 および 1 7 に提示する。

## 【表 15 - 1】

表 16

トランスジェニックマウスにおけるタウエキソン10スキッピングへの修飾オリゴヌクレ  
オチドの効果

ISIS番 号	4R 皮質	AIF1 皮質	AIF1 脊髄	配列番 号
54958 2	0.42	1.0	0.9	146
54958 3	0.71	0.9	1.2	33
61734 1	0.64	1.0	0.9	130
61736 1	0.63	1.1	1.1	151
67001 1	0.78	1.0	1.0	130
67001 2	0.47	0.9	1.1	146
67001 3	0.63	1.0	0.9	148
67001 4	0.90	0.9	1.0	33

10

20

30

40

【表 15 - 2】

6 7 0 0 1 5	0. 7 0	0. 9	0. 9	1 5 0
6 7 0 0 1 8	0. 7 5	1. 0	1. 0	3 4
6 7 0 0 1 9	0. 5 8	1. 1	1. 0	3 5
6 7 0 0 2 0	0. 6 7	0. 9	0. 9	1 3 0
6 7 0 0 2 3	0. 8 7	1. 0	1. 0	3 3
6 7 0 0 2 4	0. 6 0	1. 0	1. 1	1 5 0
6 7 0 0 2 5	0. 7 2	1. 1	0. 9	1 5 1
6 7 0 0 2 7	0. 7 9	1. 0	0. 9	3 4
6 7 0 0 2 8	0. 6 6	1. 1	1. 0	3 5
6 7 8 3 2 9	0. 1 3	1. 0	1. 0	1 4 0

10

20

30

40

【表 1 5 - 3】

6 7 8 3 3 0	0. 5 1	0. 9	0. 9	1 4 1
6 7 8 3 3 1	1. 1 2	0. 9	1. 0	8 3
6 7 8 3 3 2	0. 2 7	0. 9	1. 0	1 4 0
6 7 8 3 3 3	0. 5 6	0. 9	0. 9	1 4 1
6 7 8 3 3 4	1. 1 0	0. 9	1. 2	8 3

10

20

## 【表 16 - 1】

表 17

トランスジェニックマウスにおけるタウエキソン10スキッピングへの修飾オリゴヌクレオチドの効果

ISIS 番号	4R 皮質	AIF1 皮質	AIF1 脊髄	配列番号
5495 77	0.56	1.4	1.6	79
5495 80	0.52	0.9	1.2	82
5495 82	0.27	0.9	1.0	146
5495 86	0.90	1.1	1.3	36
5495 95	0.90	1.0	1.4	45
6173 53	1.35	1.0	1.3	142
6938 40	0.80	0.9	1.2	79
6938 41	0.91	1.1	1.1	82

10

20

30

40

【表 1 6 - 2】

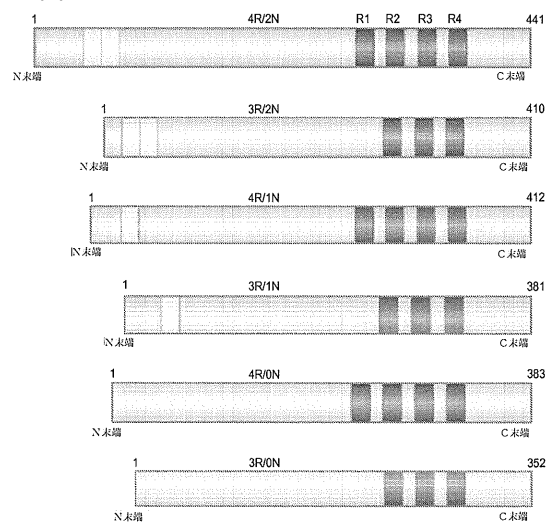
6 9 3 8 4 2	1. 2 0	1. 0	0. 8	3 6
6 9 3 8 4 3	1. 3 1	1. 0	1. 6	4 5
6 9 3 8 4 4	2. 2 2	1. 1	1. 6	1 4 2
6 9 3 8 4 5	0. 8 6	1. 0	1. 4	7 9
6 9 3 8 4 6	0. 8 4	1. 0	1. 4	8 2
6 9 3 8 4 7	0. 8 9	1. 0	1. 8	3 6
6 9 3 8 4 8	0. 7 6	0. 9	1. 9	4 5
6 9 3 8 4 9	2. 0 8	0. 8	1. 8	1 4 2

10

20

30

## 【図 1】



## 【配列表】

0006629716000001.app

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 K 9/08 (2006.01)		A 6 1 K 9/08
A 6 1 P 25/28 (2006.01)		A 6 1 P 25/28
A 6 1 P 25/00 (2006.01)		A 6 1 P 25/00

## 前置審査

(74)代理人 100120112  
弁理士 中西 基晴

(72)発明者 リゴ, フランク  
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 2 0 1 0 , カールズバッド, ガゼル・コート 2 8 5 5

(72)発明者 ベネット, シー・フランク  
アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 2 0 1 0 , カールズバッド, ガゼル・コート 2 8 5 5

審査官 竹内 祐樹

(56)参考文献 特表 2 0 0 4 - 5 0 9 6 0 4 ( J P , A )  
J. Biol. Chem., 2001, 276(46), pp.42986-42993  
Nucleic Acids Res., 2012, 40(19), pp.9836-9849  
J. Clin. Invest., 112(4), pp.481-486

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)  
C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0  
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )  
C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / B I O S I S ( S T N )