

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2023-528435
(P2023-528435A)

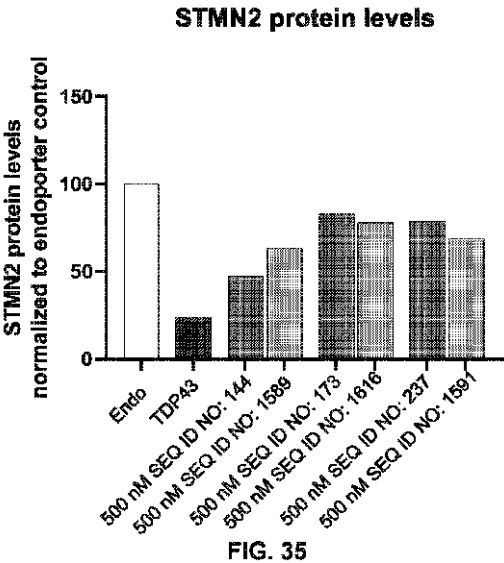
(43)公表日 令和5年7月4日(2023.7.4)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N	15/11 (2006.01)	C 1 2 N	15/11	Z Z N A	4 C 0 8 4
A 6 1 K	31/7125(2006.01)	A 6 1 K	31/7125		4 C 0 8 6
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P	25/00		
A 6 1 P	25/02 (2006.01)	A 6 1 P	25/02		
A 6 1 P	21/00 (2006.01)	A 6 1 P	21/00		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全244頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2022-574357(P2022-574357)	(71)出願人	521528171		
(86)(22)出願日	令和3年6月3日(2021.6.3)		クラリス コーポレーション		
(85)翻訳文提出日	令和5年1月26日(2023.1.26)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0		
(86)国際出願番号	PCT/US2021/035603		2 1 3 9 ノース ケンブリッジ, メイン		
(87)国際公開番号	WO2021/247800		ストリート 7 0 0		
(87)国際公開日	令和3年12月9日(2021.12.9)	(74)代理人	100092783		
(31)優先権主張番号	63/033,926		弁理士 小林 浩		
(32)優先日	令和2年6月3日(2020.6.3)	(74)代理人	100120134		
(33)優先権主張国・地域又は機関			弁理士 大森 規雄		
	米国(US)	(74)代理人	100131990		
(31)優先権主張番号	63/119,717		弁理士 大野 玲恵		
(32)優先日	令和2年12月1日(2020.12.1)	(72)発明者	エルバウム, ダニエル		
(33)優先権主張国・地域又は機関			アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0		
	米国(US)		2 4 6 2, ニュートン, シェリン ロード		
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA		2 5		
	最終頁に続く				最終頁に続く

(54)【発明の名称】 遺伝子転写物のモジュレーターを使用する神経学的疾患の処置

(57)【要約】

1つまたは複数のスペーサーを有するSTMN2オリゴヌクレオチドが本明細書に開示される。様々な実施形態では、スペーサー（複数可）を有するSTMN2オリゴヌクレオチドは、隠れエクソンを有するSTMN2転写物を低減させ、全長STMN2転写物を増加させ、それにより神経学的疾患、例えば筋萎縮性側索硬化症（ALS）、前頭側頭型認知症（FTD）、またはアルツハイマー病（AD）に対する治療有効性を付与する。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 1 3 3 9 もしくは配列番号 1 3 4 1、その 9 0 % の同一性を有する配列のいずれか 1 つの等長部分、またはその 1 5 ~ 5 0 個の連続核酸塩基部分に対して 8 5 ~ 9 8 % 相補的である配列を含む改変されたオリゴヌクレオチドを含む化合物であって、前記オリゴヌクレオチドの少なくとも 1 つ（すなわち、1 つまたは複数）のヌクレオシド結合が、非天然結合であり、さらに、前記オリゴヌクレオチドが、スペーサーを含む、化合物。

【請求項 2】

配列番号 1 3 3 9 もしくは配列番号 1 3 4 1、その 9 0 % の同一性を有する配列のいずれか 1 つの等長部分、またはその 1 5 ~ 5 0 個の連続核酸塩基部分に対して 8 5 ~ 9 8 % 相補的である配列を含むオリゴヌクレオチドであって、前記オリゴヌクレオチドの少なくとも 1 つ（すなわち、1 つまたは複数）のヌクレオシド結合が、非天然結合であり、さらに、前記オリゴヌクレオチドが、スペーサーを含む、オリゴヌクレオチド。

10

【請求項 3】

前記オリゴヌクレオチドが、多くとも 1 1 個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含む、請求項 1 に記載の化合物または請求項 2 に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 4】

前記オリゴヌクレオチドが、多くとも 1 0、9、または 8 個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含む、請求項 1 もしくは 3 に記載の化合物、または請求項 2 もしくは 3 に記載のオリゴヌクレオチド。

20

【請求項 5】

前記オリゴヌクレオチドが、多くとも 7 個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含む、請求項 1 もしくは 3 ~ 4 のいずれか一項に記載の化合物または請求項 2 ~ 4 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 6】

前記オリゴヌクレオチドが、多くとも 6、5、4、3、または 2 個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含む、請求項 1 もしくは 3 ~ 5 のいずれか一項に記載の化合物または請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 7】

前記オリゴヌクレオチドの各セグメントが、多くとも 7 個の結合型ヌクレオシドを含む、請求項 1 もしくは 3 ~ 6 のいずれか一項に記載の化合物または請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチド。

30

【請求項 8】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 ~ 4 6 6、配列番号 8 9 3 ~ 1 3 3 8、配列番号 1 3 4 2 ~ 1 3 6 6、または配列番号 1 3 9 2 ~ 1 6 6 4 のいずれか 1 つの等長部分と少なくとも 8 5 % の同一性を共有する配列を含む、請求項 3 ~ 7 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 9】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 ~ 4 6 6、配列番号 8 9 3 ~ 1 3 3 8、配列番号 1 3 4 2 ~ 1 3 6 6、または配列番号 1 3 9 2 ~ 1 6 6 4 のいずれか 1 つの等長部分と少なくとも 9 0 % の同一性を共有する配列を含む、請求項 3 ~ 8 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

40

【請求項 10】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 4 5 1 ~ 1 6 6 4 のいずれか 1 つの等長部分と少なくとも 9 5 % の同一性を共有する配列を含む、請求項 3 ~ 9 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 11】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 4 5 1 ~ 1 6 6 4 のいずれか 1 つの等長部分と 1 0 0 % の同一性を共有する配列を含む、請求項 3 ~ 9 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

50

【請求項 12】

前記オリゴヌクレオチドが、多くとも11個の結合型ヌクレオシドまたは多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含み、前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1339の位置144～168、173～197、185～209、または237～261のいずれか1つに含まれる等長部分に対して85～98%相補的である配列を含む、請求項1に記載の化合物または請求項2に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 13】

前記オリゴヌクレオチドが、多くとも11個の結合型ヌクレオシドまたは多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含み、前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1339の位置144～164、144～166、145～167、146～166、146～168、147～165、または148～168のいずれか1つに含まれる核酸塩基の等長部分に対して85～98%相補的である配列を含む、請求項12に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

10

【請求項 14】

前記オリゴヌクレオチドが、多くとも11個の結合型ヌクレオシドまたは多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含み、前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1339の位置173～191、173～193、173～195、173～197、175～195、175～197、177～197、または179～197のいずれか1つに含まれる核酸塩基の等長部分に対して85～98%相補的である配列を含む、請求項12に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

20

【請求項 15】

前記オリゴヌクレオチドが、多くとも11個の結合型ヌクレオシドまたは多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含み、前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1339の位置185～205、187～209、189～209、または191～209のいずれか1つに含まれる核酸塩基の等長部分に対して85～98%相補的である配列を含む、請求項12に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 16】

前記オリゴヌクレオチドが、多くとも11個の結合型ヌクレオシドまたは多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含み、前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1339の位置237～255、237～259、239～259、239～261、241～261、または243～261のいずれか1つに含まれる核酸塩基の等長部分に対して85～98%相補的である配列を含む、請求項12に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

30

【請求項 17】

前記オリゴヌクレオチドが、多くとも6、5、4、3、または2個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含み、前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1339の位置144～168、173～197、185～209、または237～261のいずれか1つに含まれる核酸塩基の等長部分に対して85～98%相補的である配列を含む、請求項12に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 18】

前記オリゴヌクレオチドが、多くとも6、5、4、3、または2個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含み、前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1339の位置144～164、144～166、145～167、146～166、146～168、147～165、148～168、173～191、173～193、173～195、173～197、175～195、175～197、177～197、179～197、185～205、187～209、189～209、191～209、237～255、237～259、239～259、239～261、241～261、または243～261のいずれか1つに含まれる核酸塩基の等長部分に対して85～98%相補的である配列を含む、請求項12に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

40

【請求項 19】

50

前記オリゴヌクレオチドが、多くとも11個の結合型ヌクレオシドまたは多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含み、前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1～466、配列番号893～1338、配列番号1342～1366、または配列番号1392～1664のいずれか1つの等長部分と少なくとも85%の同一性を共有する配列を含む、請求項12に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項20】

前記オリゴヌクレオチドが、多くとも6、5、4、3、または2個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含み、前記オリゴヌクレオチドが、配列番号36、55、144、173、177、181、185、197、203、209、215、237、244、252、380、385、390、395、400、928、947、1036、1065、1069、1073、1077、1089、1095、1101、1107、1129、1136、1144、1272、1277、1282、1287、または1292のいずれか1つの等長部分と少なくとも85%の同一性を共有する配列を含む、請求項19に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

10

【請求項21】

前記オリゴヌクレオチドが、多くとも6、5、4、3、または2個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含み、前記オリゴヌクレオチドが、配列番号36、55、144、173、177、181、185、197、203、209、215、237、244、252、380、385、390、395、400、928、947、1036、1065、1069、1073、1077、1089、1095、1101、1107、1129、1136、1144、1272、1277、1282、1287、または1292のいずれか1つの等長部分と少なくとも90%の同一性を共有する配列を含む、請求項19または20に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

20

【請求項22】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、少なくとも23、少なくとも24、または少なくとも25個のオリゴヌクレオチド単位の長さである、請求項1および3～21のいずれか一項に記載の化合物または請求項2～21のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項23】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも19個のオリゴヌクレオチド単位の長さである、請求項21に記載の化合物または請求項21に記載のオリゴヌクレオチド。

30

【請求項24】

前記スペーサーが、ヌクレオチド塩基と結合することができない非糖置換物を含むヌクレオシド置換基である、請求項1および3～23のいずれか一項に記載の化合物または請求項2～23のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項25】

前記スペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの10～15位の間に位置する、請求項24に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項26】

前記スペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの7～11位の間に位置する、請求項24に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

40

【請求項27】

前記オリゴヌクレオチドが、第2のスペーサーをさらに含み、前記第2のスペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの14～22位の間に位置する、請求項24または26に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項28】

前記スペーサーおよび前記第2のスペーサーが、前記オリゴヌクレオチド内の少なくとも5個の核酸塩基、少なくとも6個の核酸塩基、または少なくとも7個の核酸塩基により隔てられる、請求項27に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項29】

50

前記スペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの 7～9 位の間に位置し、前記第 2 のスペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの 15～18 位の間に位置する、請求項 27 または 28 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 30】

前記スペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの 8 位に位置し、前記第 2 のスペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの 16 位に位置する、請求項 27～29 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 31】

前記オリゴヌクレオチドが、第 3 のスペーサーをさらに含み、前記第 3 のスペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの 21～24 位の間に位置する、請求項 27～30 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

10

【請求項 32】

前記スペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの 2～5 位の間に位置する、請求項 24 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 33】

前記オリゴヌクレオチドが、第 2 のスペーサーをさらに含み、前記第 2 のスペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの 8～12 位の間に位置する、請求項 32 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 34】

前記オリゴヌクレオチドが、第 3 のスペーサーをさらに含み、前記第 3 のスペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの 18～22 位の間に位置する、請求項 33 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

20

【請求項 35】

前記オリゴヌクレオチドが、第 2 のスペーサーおよび第 3 のスペーサーをさらに含み、3 つの前記スペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの各セグメントが多くとも 7 個の結合型ヌクレオシドを有するような前記オリゴヌクレオチド内の位置に位置する、請求項 24 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 36】

3 つの前記スペーサーの少なくとも 2 つが、グアニン核酸塩基に隣接している、請求項 35 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

30

【請求項 37】

3 つの前記スペーサーの前記少なくとも 2 つのそれぞれが、グアニン核酸塩基の直前にある、請求項 36 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 38】

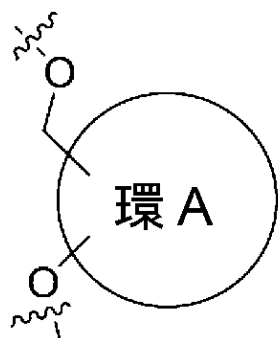
前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、非糖置換物を含むヌクレオシド置換基であり、前記非糖置換物が、ケトン、アルデヒド、ケタール、ヘミケタール、アセタール、ヘミアセタール、アミナールまたはヘミアミナール部分を含有せず、かつヌクレオチド塩基と共有結合を形成することができない、請求項 24～37 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 39】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 (X)：

40

【化 1】



式 (X)

10

により表され、

環 A が、任意選択で置換された 4～8 員の単環式シクロアルキル基または 4～8 員の単環式ヘテロシクリル基であり、前記ヘテロシクリル基が、O、S および N から選択される 1 つまたは 2 つのヘテロ原子を含有するが、ただし、A は核酸塩基との共有結合を形成することができず；

記号

【化 2】



20

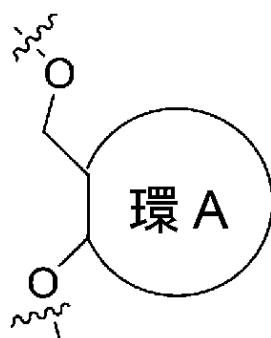
が、ヌクレオシド間結合との接続点を表す、

請求項 24～37 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 40】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 (Xa)：

【化 3】



式 (Xa)

30

により表される、請求項 39 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

40

【請求項 41】

環 A が、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチルおよびシクロオクチルから選択される、任意選択で置換された 4～8 員の単環式シクロアルキル基；またはオキセタニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、1,4-ジオキサニル、ピロリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、モルホリニルおよびアゼパニルから選択される、4～8 員の単環式ヘテロシクリル基である、請求項 39 または 40 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 42】

環 A が、テトラヒドロフラニルである、請求項 41 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

50

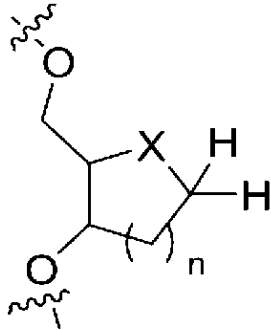
【請求項 4 3】

環 A が、テトラヒドロピラニルである、請求項 4 1 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 4 4】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 I :

【化 4】



式 (I)

により表され、

X が、-CH₂-および-O-から選択され；

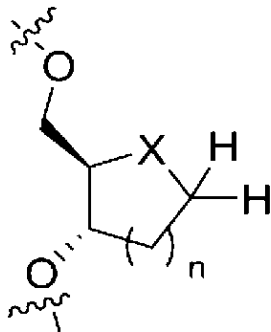
n が、0、1、2 または 3 である、

請求項 2 4 ~ 3 7 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 4 5】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 I' :

【化 5】



式 (I')

により表され、

X が、-CH₂-および-O-から選択され；

n が、0、1、2 または 3 である、

請求項 2 4 ~ 3 7 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 4 6】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 (I a) :

10

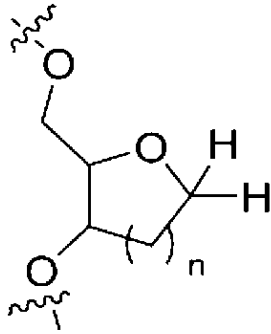
20

30

40

50

【化 6】



式 (Ia)

10

により表され；

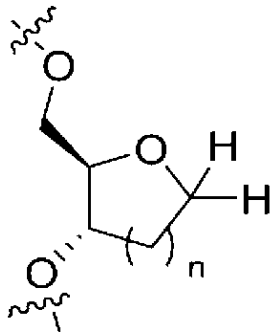
n が、0、1、2 または 3 である、

請求項 24～37 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 47】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 (Ia')：

【化 7】



式 (Ia')

20

により表され；

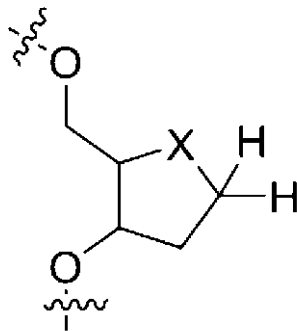
n が、0、1、2 または 3 である、

請求項 24～37 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 48】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 II：

【化 8】



式 (II)

40

により表され；

X が、 $-CH_2-$ および $-O-$ から選択される、

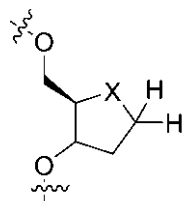
50

請求項 24～37 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 49】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 I I' :

【化 9】



式 (II')

10

により表され；

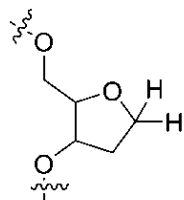
X が、 $-CH_2-$ および $-O-$ から選択される、

請求項 24～37 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 50】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 (I i a) :

【化 10】



式 (Iia)

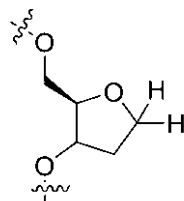
20

により表される、請求項 24～37 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 51】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 (I i a') :

【化 11】



式 (Iia')

30

40

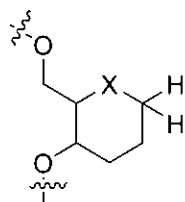
により表される、請求項 24～37 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 52】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 I I I :

50

【化 1 2】



式 (III)

により表され；

10

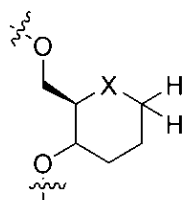
X が、 $-CH_2-$ および $-O-$ から選択される、

請求項 2 4 ～ 3 7 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 5 3】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 III' ：

【化 1 3】



式 (III')

20

により表され；

X が、 $-CH_2-$ および $-O-$ から選択される、

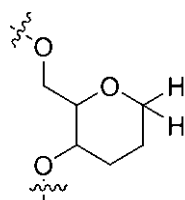
請求項 2 4 ～ 3 7 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 5 4】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 $(IIIa)$ ：

30

【化 1 4】



式 (IIIa)

により表される、請求項 2 4 ～ 3 7 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

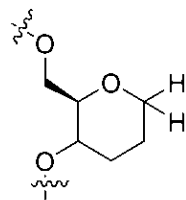
40

【請求項 5 5】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 $(IIIa')$ ：

50

【化 15】



式 (IIIa')

により表される、請求項 24～37 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

10

【請求項 56】

前記スパーサーを含む前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 10% の GC 含量を有する、請求項 1～55 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 57】

前記スパーサーを含む前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 20% の GC 含量を有する、請求項 1～56 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 58】

前記スパーサーを含む前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 25% の GC 含量を有する、請求項 1～57 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

20

【請求項 59】

前記スパーサーを含む前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 30% の GC 含量を有する、請求項 1～58 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 60】

前記スパーサーを含む前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 40% の GC 含量を有する、請求項 1～59 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 61】

前記スパーサーを含む前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 50% の GC 含量を有する、請求項 1～60 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 62】

前記オリゴヌクレオチドが、12～40 個のオリゴヌクレオチド単位の長さである、請求項 1～61 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

30

【請求項 63】

前記オリゴヌクレオチドの少なくとも 1 つ（すなわち、1 つまたは複数）のヌクレオシド結合が、ホスホジエステル結合、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィナート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホルアミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、ホスホロジアミデート結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合からなる群から独立に選択される、請求項 1～62 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

40

【請求項 64】

前記オリゴヌクレオチドの 3 位または 4 位の塩基を結合する 1 つまたは複数のヌクレオシド結合が、ホスホジエステル結合である、請求項 1～63 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 65】

前記オリゴヌクレオチドの 3 位または 4 位の塩基を結合する 1 つのヌクレオシド結合の

50

みが、ホスホジエステル結合である、請求項 6 4 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 6 6】

前記オリゴヌクレオチドの 3 位および 4 位の両方の塩基を結合するヌクレオシド結合が、ホスホジエステル結合である、請求項 1 ～ 6 3 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 6 7】

前記オリゴヌクレオチド内のスペーサーの直前の 1 つまたは複数の塩基が、ホスホジエステル結合を通じて結合している、請求項 1 ～ 6 3 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 6 8】

前記オリゴヌクレオチド内の前記スペーサーの直前の塩基のみが、ホスホジエステル結合を通じて前記スペーサーと結合している、請求項 6 7 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 6 9】

前記オリゴヌクレオチド内の前記スペーサーの直前の前記塩基が、ホスホジエステル結合を通じてさらなる前の塩基とさらに結合している、請求項 6 8 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 7 0】

前記オリゴヌクレオチドが、第 2 のスペーサーを含み、前記第 2 のスペーサーの直前の塩基が、ホスホジエステル結合を通じてさらなる前の塩基と結合している、請求項 6 8 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 7 1】

前記オリゴヌクレオチド内のスペーサーの直後の 1 つまたは複数の塩基が、ホスホジエステル結合を通じて結合している、請求項 1 ～ 6 3 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 7 2】

前記オリゴヌクレオチド内の前記スペーサーの直後の塩基のみが、ホスホジエステル結合を通じて前記スペーサーと結合している、請求項 7 1 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 7 3】

前記オリゴヌクレオチド内の前記スペーサーの直前の 2 つの塩基が、ホスホジエステル結合を通じて結合している、請求項 6 7 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 7 4】

前記オリゴヌクレオチド内のスペーサーの直前の 1 つまたは複数の塩基が、ホスホジエステル結合を通じて結合しており、前記オリゴヌクレオチド内の前記スペーサーの直後の 1 つまたは複数の塩基が、ホスホジエステル結合を通じて結合している、請求項 1 ～ 6 3 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 7 5】

前記スペーサーの直前の 1 つの塩基および前記スペーサーの直後の 1 つの塩基が、ホスホジエステル結合を通じて結合している、請求項 7 4 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 7 6】

前記オリゴヌクレオチドが、第 2 のスペーサーを含み、前記オリゴヌクレオチド内の前記第 2 のスペーサーの直前の 1 つまたは複数の塩基が、ホスホジエステル結合を通じて結合しており、前記オリゴヌクレオチド内の前記第 2 のスペーサーの直後の 1 つまたは複数の塩基が、ホスホジエステル結合を通じて結合している、請求項 7 4 または 7 5 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 7 7】

前記第 2 のスペーサーの直前の 1 つの塩基および前記第 2 のスペーサーの直後の 1 つの

10

20

30

40

50

塩基が、ホスホジエステル結合を通じて結合している、請求項 76 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 78】

前記オリゴヌクレオチドが、ホスホジエステル結合を通じて結合している一連の塩基を含み、前記一連の塩基が、少なくとも 2 つの塩基を含む、請求項 1～63 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 79】

前記オリゴヌクレオチドが、ホスホジエステル結合を通じて結合している一連の塩基を含み、前記一連の塩基が、少なくとも 5 つの塩基を含む、請求項 1～63 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 80】

前記オリゴヌクレオチドが、2 つまたはそれより多くのスペーサーを含み、前記一連の塩基が、少なくとも 2 つの前記スペーサーの間に配置される、請求項 78 または 79 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 81】

配列番号 1～466、配列番号 893～1338、配列番号 1342～1366、または配列番号 1392～1664 のいずれか 1 つの等長部分に対して少なくとも 90 % の同一性を共有する核酸塩基配列を含むオリゴヌクレオチドを含む化合物。

【請求項 82】

配列番号 1～466、配列番号 893～1338、配列番号 1342～1366、または配列番号 1392～1664 のいずれか 1 つの等長部分に対して少なくとも 90 % の同一性を共有する核酸塩基配列を含むオリゴヌクレオチド。

【請求項 83】

前記核酸塩基配列が、配列番号 1～466、配列番号 893～1338、配列番号 1342～1366、または配列番号 1392～1664 のいずれか 1 つの等長部分に対して少なくとも 95 % の同一性を共有する、請求項 81 に記載の化合物または請求項 81 もしくは 82 に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 84】

前記核酸塩基配列が、配列番号 1～466、配列番号 893～1338、配列番号 1342～1366、または配列番号 1392～1664 のいずれか 1 つの等長部分に対して少なくとも 100 % の同一性を共有する、請求項 81 に記載の化合物または請求項 81 もしくは 82 に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 85】

前記オリゴヌクレオチドが、19mer、21mer、23mer、または 25mer のいずれか 1 つである、請求項 64～84 のいずれかに記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 86】

前記オリゴヌクレオチドの 1 つまたは複数のヌクレオシド間結合が、改変されたヌクレオシド間結合である、請求項 1～85 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 87】

前記オリゴヌクレオチドの前記改変されたヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエート結合である、請求項 86 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 88】

前記オリゴヌクレオチドのすべてのヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエート結合である、請求項 86 または 87 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 89】

前記化合物またはホスホロチオエート結合が、R_pコンフィギュレーションまたはS_pコンフィギュレーションのうちの 1 つである、請求項 87 に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

10

20

30

40

50

【請求項 90】

少なくとも1つの改変型糖部分を含む、請求項1～89のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 91】

前記改変型糖部分が、2'-OMe改変型糖部分、二環式糖部分、2'-O-(2-メトキシエチル)(2'-MOE)、2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオシド、2'-フルオロ-β-D-アラビノヌクレオシド、ロックド核酸(LNA)、拘束エチル2'-4'-架橋型核酸(cEt)、S-cEt、tcDNA、ヘキシトール核酸(HNA)、および三環系アナログ(例えば、tcDNA)のうちの1つである、請求項90に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

10

【請求項 92】

前記オリゴヌクレオチドが、完全長STMN2タンパク質の、少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、もしくは90%の増加を呈する、請求項1～91のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 93】

前記オリゴヌクレオチドが、完全長STMN2タンパク質の、少なくとも100%の増加を呈する、請求項1～92のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 94】

前記オリゴヌクレオチドが、完全長STMN2タンパク質の、少なくとも200%の増加を呈する、請求項1～93のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

20

【請求項 95】

前記オリゴヌクレオチドが、完全長STMN2タンパク質の、少なくとも300%の増加を呈する、請求項1～94のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 96】

前記オリゴヌクレオチドが、完全長STMN2タンパク質の、少なくとも400%の増加を呈する、請求項1～95のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 97】

前記完全長STMN2タンパク質の増加が、TDP43アンチセンスオリゴヌクレオチドを使用して達成される完全長STMN2タンパク質の低下したレベルとの比較において測定される、請求項92～96のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

30

【請求項 98】

完全長STMN2タンパク質の、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、または100%のレスキューを呈する、請求項1～97のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 99】

隠れエクソンを有するSTMN2転写物の、少なくとも50%、60%、70%、80%、または90%の低下を呈する、請求項1～98のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

【請求項 100】

それを必要としている患者における神経学的疾患および／またはニューロパシーを処置する方法であって、請求項1～99のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチド。

40

【請求項 101】

前記神経学的疾患が、筋萎縮性側索硬化症(ALS)、前頭側頭型認知症(FTD)、FTDを伴うALS、アルツハイマー病(AD)、パーキンソン病(PD)、ハンチントン病、進行性核上性麻痺(PSP)、頭部外傷、脊髄損傷、皮質基底核変性症(CBD)、神経損傷(例えば、腕神経叢損傷)、ニューロパシー(例えば、化学療法誘発性のニューロパシー)、ならびにTDP43プロテインパシー(例えば、慢性外傷性脳症、ペリー症候群、アルツハイマー病と関連するレビー小体型認知症、認知症を伴うまたは伴わない

50

パーキンソン病、および辺縁系優位型加齢性 TDP-43 脳症 (L A T E) からなる群から選択される、請求項 100 に記載の方法。

【請求項 102】

前記神経学的疾患が、ALS である、請求項 101 に記載の方法。

【請求項 103】

前記神経学的疾患が、FTD である、請求項 101 に記載の方法。

【請求項 104】

前記神経学的疾患が、FTD を伴う ALS である、請求項 101 に記載の方法。

【請求項 105】

前記ニューロパシーが、化学療法誘発性のニューロパシーである、請求項 100 に記載の方法。

10

【請求項 106】

ニューロンの軸索伸長および／または再生を修復する方法であって、前記ニューロンを、請求項 1～99 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチドに曝露するステップを含む方法。

【請求項 107】

ニューロンにおける STMN2 発現および／または機能を増加、促進、安定化、または維持する方法であって、細胞を、請求項 1～99 のいずれか一項に記載の化合物またはオリゴヌクレオチドに曝露するステップを含む方法。

【請求項 108】

20

前記ニューロンが、運動ニューロンである、請求項 106 または 107 に記載の方法。

【請求項 109】

前記ニューロンが、脊髄ニューロンである、請求項 106 または 107 に記載の方法。

【請求項 110】

前記ニューロンが、神経学的疾患および／またはニューロパシーの処置を必要としている患者のニューロンである、請求項 106～109 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 111】

前記ニューロパシーが、化学療法誘発性のニューロパシーである、請求項 110 に記載の方法。

【請求項 112】

30

前記曝露するステップが、in vivo または ex vivo で実施される、請求項 106～111 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 113】

前記曝露するステップが、前記オリゴヌクレオチドを、それを必要としている患者に投与することを含む、請求項 106～111 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 114】

前記オリゴヌクレオチドが、局所、非経口、髄腔内、視床内、大槽内、経口、直腸内、頬側、舌下、膣腔内、肺内、気管内、鼻腔内、経皮、または十二指腸内投与される、請求項 106～113 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 115】

40

前記オリゴヌクレオチドが、経口投与される、請求項 114 に記載の方法。

【請求項 116】

治療有効量の前記オリゴヌクレオチドが、髄腔内、視床内または大槽内投与される、請求項 106～114 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 117】

前記患者が、ヒトである、請求項 106～116 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 118】

請求項 1～99 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチド、または薬学的に許容されるその塩、および薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物。

【請求項 119】

50

前記医薬組成物が、局所、髄腔内、視床内、大槽内、脳室内、非経口、経口、肺内、気管内、鼻腔内、経皮、直腸内、頬側、舌下、腔腔内、または十二指腸内投与に適する、請求項 1 1 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 2 0】

それを必要としている患者における神経学的疾患またはニューロパシーを処置する方法であって、治療有効量の請求項 1 1 8 または 1 1 9 に記載の医薬組成物を、それを必要としている患者に投与するステップを含む方法。

【請求項 1 2 1】

前記神経学的疾患が、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、前頭側頭型認知症（FTD）、FTD を伴う ALS、アルツハイマー病（AD）、パーキンソン病（PD）、ハンチントン病、進行性核上性麻痺（PSP）、頭部外傷、脊髄損傷、皮質基底核変性症（CBD）、神経損傷（例えば、腕神経叢損傷）、ニューロパシー（例えば、化学療法誘発性のニューロパシー）、ならびに TDP 43 プロテインノパシー（例えば、慢性外傷性脳症、ペリー症候群、アルツハイマー病と関連するレビー小体型認知症、認知症を伴うまたは伴わないパーキンソン病、および辺縁系優位型加齢性 TDP-43 脳症（LATE））からなる群から選択される、請求項 1 2 0 に記載の方法。

10

【請求項 1 2 2】

前記神経学的疾患が、ALS である、請求項 1 2 1 に記載の方法。

【請求項 1 2 3】

前記神経学的疾患が、FTD である、請求項 1 2 1 に記載の方法。

20

【請求項 1 2 4】

前記神経学的疾患が、FTD を伴う ALS である、請求項 1 2 1 に記載の方法。

【請求項 1 2 5】

前記ニューロパシーが、化学療法誘発性のニューロパシーである、請求項 1 2 0 に記載の方法。

【請求項 1 2 6】

前記医薬組成物が、局所、非経口、経口、肺内、直腸内、頬側、舌下、腔腔内、気管内、鼻腔内、大槽内、髄腔内、視床内、経皮、または十二指腸内投与される、請求項 1 2 0 ～ 1 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2 7】

前記医薬組成物が、髄腔内、視床内、または大槽内投与される、請求項 1 2 0 ～ 1 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 1 2 8】

治療有効量の前記オリゴヌクレオチドが、髄腔内、視床内または大槽内投与される、請求項 1 2 0 ～ 1 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2 9】

前記患者が、ヒトである、請求項 1 2 0 ～ 1 2 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3 0】

それを必要としている対象における神経学的疾患を処置するための方法であって、多くとも 7 個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含むオリゴヌクレオチドであり、配列番号 1 ～ 4 6 6、配列番号 8 9 3 ～ 1 3 3 8、配列番号 1 3 4 2 ～ 1 3 6 6、もしくは配列番号 1 3 9 2 ～ 1 6 6 4 のいずれか 1 つと少なくとも 8 5 % の同一性を共有するオリゴヌクレオチド、または薬学的に許容されるその塩を前記対象に投与するステップを含み；

40

前記オリゴヌクレオチドの少なくとも 1 つ（すなわち、1 つまたは複数）のヌクレオシド結合が、ホスホジエステル結合、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィナート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホルアミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、ホスホロ

50

ジアミデート結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合からなる群から独立に選択され、ならびに／または

少なくとも1つ（すなわち、1つまたは複数）のヌクレオシドが、2'-O-（2'-メトキシエチル）ヌクレオシド、2'-O-メチルヌクレオシド、2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオシド、2'-フルオロ-β-D-アラビノヌクレオシド、ロックド核酸（LNA）、三環式核酸、拘束メトキシエチル（cMOE）、拘束エチル（cET）、およびペプチド核酸（PNA）からなる群から選択されるコンポーネントで置換されており、

10

任意選択で、前記オリゴヌクレオチドが、スパーサーをさらに含む、方法。

【請求項131】

それを必要としている対象における筋萎縮性側索硬化症（ALS）を処置するための方法であって、多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含むオリゴヌクレオチドであり、配列番号1～466、配列番号893～1338、配列番号1342～1366、もしくは配列番号1392～1664のいずれか1つと少なくとも85%の同一性を共有するオリゴヌクレオチド、または薬学的に許容されるその塩を前記対象に投与するステップを含み；

前記オリゴヌクレオチドの少なくとも1つ（すなわち、1つまたは複数）のヌクレオシド結合が、ホスホジエステル結合、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィナート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホルアミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、ホスホロジアミデート結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合からなる群から独立に選択され、ならびに／または

20

少なくとも1つ（すなわち、1つまたは複数）のヌクレオシドが、2'-O-（2'-メトキシエチル）ヌクレオシド、2'-O-メチルヌクレオシド、2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオシド、2'-フルオロ-β-D-アラビノヌクレオシド、ロックド核酸（LNA）、三環式核酸、拘束メトキシエチル（cMOE）、拘束エチル（cET）、およびペプチド核酸（PNA）からなる群から選択されるコンポーネントで置換されており、

30

任意選択で、前記オリゴヌクレオチドが、スパーサーをさらに含む、方法。

【請求項132】

それを必要としている対象における前頭側頭型認知症（FTD）を処置するための方法であって、多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含むオリゴヌクレオチドであり、配列番号1～466、配列番号893～1338、配列番号1342～1366、もしくは配列番号1392～1664のいずれか1つと少なくとも85%の同一性を共有するオリゴヌクレオチド、または薬学的に許容されるその塩を前記対象に投与するステップを含み；

40

前記オリゴヌクレオチドの少なくとも1つ（すなわち、1つまたは複数）のヌクレオシド結合が、ホスホジエステル結合、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィナート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホルアミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、ホスホロ

50

ジアミデート結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合からなる群から独立に選択され、ならびに／または

少なくとも1つ（すなわち、1つまたは複数）のヌクレオシドが、2'-O-（2-メトキシエチル）ヌクレオシド、2'-O-メチルヌクレオシド、2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオシド、2'-フルオロ-β-D-アラビノヌクレオシド、ロックド核酸（LNA）、三環式核酸、拘束メトキシエチル（cMOE）、拘束エチル（cET）、およびペプチド核酸（PNA）からなる群から選択されるコンポーネントで置換されており、

10

任意選択で、前記オリゴヌクレオチドが、スペーサーをさらに含む、方法。

【請求項133】

それを必要としている対象における前頭側頭型認知症（FTD）を伴う筋萎縮性側索硬化症（ALS）を処置するための方法であって、多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含むオリゴヌクレオチドであり、配列番号1～466、配列番号893～1338、配列番号1342～1366、もしくは配列番号1392～1664のいずれか1つと少なくとも85%の同一性を共有するオリゴヌクレオチド、または薬学的に許容されるその塩を前記対象に投与するステップを含み；

前記オリゴヌクレオチドの少なくとも1つ（すなわち、1つまたは複数）のヌクレオシド結合が、ホスホジエステル結合、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィナート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホルアミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、ホスホロジアミデート結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合からなる群から独立に選択され、ならびに／または

20

少なくとも1つ（すなわち、1つまたは複数）のヌクレオシドが、2'-O-（2-メトキシエチル）ヌクレオシド、2'-O-メチルヌクレオシド、2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオシド、2'-フルオロ-β-D-アラビノヌクレオシド、ロックド核酸（LNA）、三環式核酸、拘束メトキシエチル（cMOE）、拘束エチル（cET）、およびペプチド核酸（PNA）からなる群から選択されるコンポーネントで置換されており、

30

任意選択で、前記オリゴヌクレオチドが、スペーサーをさらに含む、方法。

【請求項134】

前記オリゴヌクレオチドの3位または4位の塩基を結合するヌクレオシド結合が、ホスホジエステル結合である、請求項130～133のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項135】

前記オリゴヌクレオチドの3位または4位の塩基を結合する1つのヌクレオシド結合のみが、ホスホジエステル結合である、請求項134に記載の方法。

【請求項136】

前記オリゴヌクレオチドの3位および4位の両方の塩基を結合するヌクレオシド結合が、ホスホジエステル結合である、請求項130～133のいずれか一項に記載の方法。

【請求項137】

前記オリゴヌクレオチド内のスペーサーの直前の1つまたは複数の塩基が、ホスホジエステル結合を通じて結合している、請求項130～133のいずれか一項に記載の方法。

【請求項138】

50

前記オリゴヌクレオチド内の前記スパーサーの直前の塩基のみが、ホスホジエステル結合を通じて前記スパーサーと結合している、請求項 1 3 7 に記載の方法。

【請求項 1 3 9】

前記オリゴヌクレオチド内の前記スパーサーの直前の前記塩基が、ホスホジエステル結合を通じてさらなる前の塩基とさらに結合している、請求項 1 3 8 に記載の方法。

【請求項 1 4 0】

前記オリゴヌクレオチドが、第 2 のスパーサーを含み、前記第 2 のスパーサーの直前の塩基が、ホスホジエステル結合を通じてさらなる前の塩基と結合している、請求項 1 3 8 に記載の方法。

【請求項 1 4 1】

前記オリゴヌクレオチド内のスパーサーの直後の 1 つまたは複数の塩基が、ホスホジエステル結合を通じて結合している、請求項 1 3 0 ~ 1 3 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 4 2】

前記オリゴヌクレオチド内の前記スパーサーの直後の塩基のみが、ホスホジエステル結合を通じて前記スパーサーと結合している、請求項 1 4 1 に記載の方法。

【請求項 1 4 3】

前記オリゴヌクレオチド内の前記スパーサーの直前の 2 つの塩基が、ホスホジエステル結合を通じて結合している、請求項 1 3 0 ~ 1 3 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 4 4】

前記オリゴヌクレオチド内のスパーサーの直前の 1 つまたは複数の塩基が、ホスホジエステル結合を通じて結合しており、前記オリゴヌクレオチド内の前記スパーサーの直後の 1 つまたは複数の塩基が、ホスホジエステル結合を通じて結合している、請求項 1 3 0 ~ 1 3 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 4 5】

前記スパーサーの直前の 1 つの塩基および前記スパーサーの直後の 1 つの塩基が、ホスホジエステル結合を通じて結合している、請求項 1 4 4 に記載の方法。

【請求項 1 4 6】

前記オリゴヌクレオチドが、第 2 のスパーサーを含み、前記オリゴヌクレオチド内の前記第 2 のスパーサーの直前の 1 つまたは複数の塩基が、ホスホジエステル結合を通じて結合しており、前記オリゴヌクレオチド内の前記第 2 のスパーサーの直後の 1 つまたは複数の塩基が、ホスホジエステル結合を通じて結合している、請求項 1 4 4 または 1 4 5 に記載の方法。

【請求項 1 4 7】

前記第 2 のスパーサーの直前の 1 つの塩基および前記第 2 のスパーサーの直後の 1 つの塩基が、ホスホジエステル結合を通じて結合している、請求項 1 4 6 に記載の方法。

【請求項 1 4 8】

前記オリゴヌクレオチドが、ホスホジエステル結合を通じて結合している一連の塩基を含み、前記一連の塩基が、少なくとも 2 つの塩基を含む、請求項 1 3 0 ~ 1 3 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 4 9】

前記オリゴヌクレオチドが、ホスホジエステル結合を通じて結合している一連の塩基を含み、前記一連の塩基が、少なくとも 5 つの塩基を含む、請求項 1 3 0 ~ 1 3 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5 0】

前記オリゴヌクレオチドが、2 つまたはそれより多くのスパーサーを含み、前記一連の塩基が、少なくとも 2 つの前記スパーサーの間に配置される、請求項 1 4 8 または 1 4 9 に記載の方法。

【請求項 1 5 1】

前記オリゴヌクレオチドが、1 9 m e r、2 1 m e r、2 3 m e r、または 2 5 m e r のいずれか 1 つである、請求項 1 3 4 ~ 1 5 0 のいずれかに記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 152】

前記オリゴヌクレオチドの少なくとも1つ（すなわち、1つまたは複数）のヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエート結合である、請求項130～133のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 153】

前記オリゴヌクレオチドのすべてのヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエート結合である、請求項130～133のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 154】

オリゴヌクレオチドおよび薬学的に許容される賦形剤であって、前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1339もしくは配列番号1341、その90%の同一性を有する配列のいずれか1つの等長部分、またはその15～50個の連続核酸塩基部分に対して85～98%相補的である配列を含み、任意選択で、前記オリゴヌクレオチドが、スパーサーを含み、前記オリゴヌクレオチドが、免疫媒介性脱髄疾患の細胞またはヒト患者における機能的STMN2の翻訳能力を有するSTMN2 mRNAの発現、ならびに／あるいはSTMN2タンパク質の活性および／または機能を増加、修復、または安定化させる能力を有し、発現ならびに／あるいは活性および／または機能を増加、修復、または安定化させるレベルが、前記免疫媒介性脱髄疾患を処置するための医薬として前記オリゴヌクレオチドを使用するのに十分である、オリゴヌクレオチドおよび薬学的に許容される賦形剤。

【請求項 155】

前記オリゴヌクレオチドが、1つまたは複数のキラル中心および／または二重結合を含む、請求項100～117もしくは120～153のいずれか一項に記載の方法、請求項118もしくは119に記載の医薬組成物、または請求項1～99もしくは154のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 156】

前記オリゴヌクレオチドが、幾何異性体、エナンチオマー、およびジアステレオマーから選択される立体異性体として存在する、請求項100～117、120～153、もしくは155のいずれか一項に記載の方法、請求項118、119、もしくは155に記載の医薬組成物、または請求項1～99もしくは154～155のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 157】

それを必要としている患者における神経学的疾患および／またはニューロパシーを処置する方法であって、治療有効量の請求項118または119に記載の医薬組成物を、それを必要としている患者に、第2の治療剤と組み合わせて投与するステップを含む方法。

【請求項 158】

前記第2の治療剤が、前記神経学的疾患を処置するための、リルゾール（Rilutek）、エダラボン（Radicala）、リバスチグミン、ドネペジル、ガランタミン、選択的セロトニン再取り込み阻害薬、抗精神病薬、コリンエステラーゼ阻害剤、メマンチン、ベンゾジアゼピン抗不安薬、AMX0035（ELYBRIO）、ZILUCOPLAN（RA101495）、プリドピジン、デュアルAON髄腔内投与剤（例えば、BIB067、BIB078、およびBIB105）、BIB100、レボドパ／カルビドパ、ドーパミン作動薬（例えば、ロピニロール、プラミベキソール、ロチゴチン）、メドロキシプロゲステロン、KCNQ2／KCNQ3オプナー（例えば、レチガビン、XEN1101、もしくはQRL-101）、抗痙攣薬、および精神刺激剤、ならびに／または療法（例えば、フリージングケア、物理療法、作業療法、言語障害療法、栄養支援から選択される）から選択される、請求項157に記載の方法。

【請求項 159】

それを必要としている患者における神経学的疾患および／またはニューロパシーを処置する方法であって、治療有効量の請求項118または119に記載の医薬組成物を、それを必要としている患者に投与するステップを含み、前記オリゴヌクレオチドの少なくとも1つのヌクレオシド結合が、非天然結合であり、任意選択で、前記オリゴヌクレオチドが

10

20

30

40

50

、スペーサーを含み、前記オリゴヌクレオチドが、コレステロール、リポ酸、パントテン酸、ポリエチレングリコール、および血液脳関門を通過するための抗体から選択される標的化またはコンジュゲート部分をさらに含む、方法。

【請求項 160】

前記スペーサーが、ヌクレオチド塩基と結合することができない非糖置換物を含むヌクレオシド置換基である、請求項 100～117、120～153、または 155～159 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 161】

前記スペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの 10～15 位の間に位置する、請求項 160 に記載の方法。

【請求項 162】

前記スペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの 7～11 位の間に位置する、請求項 160 に記載の方法。

【請求項 163】

前記オリゴヌクレオチドが、第 2 のスペーサーをさらに含み、前記第 2 のスペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの 14～22 位の間に位置する、請求項 160 または 162 に記載の方法。

【請求項 164】

前記スペーサーおよび前記第 2 のスペーサーが、前記オリゴヌクレオチド内の少なくとも 5 個の核酸塩基、少なくとも 6 個の核酸塩基、または少なくとも 7 個の核酸塩基により隔てられる、請求項 163 に記載の方法。

【請求項 165】

前記スペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの 7～9 位の間に位置し、前記第 2 のスペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの 15～18 位の間に位置する、請求項 163 または 164 に記載の方法。

【請求項 166】

前記スペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの 8 位に位置し、前記第 2 のスペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの 16 位に位置する、請求項 163～165 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 167】

前記オリゴヌクレオチドが、第 3 のスペーサーをさらに含み、前記第 3 のスペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの 21～24 位の間に位置する、請求項 163～166 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 168】

前記スペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの 2～5 位の間に位置する、請求項 160 に記載の方法。

【請求項 169】

前記オリゴヌクレオチドが、第 2 のスペーサーをさらに含み、前記第 2 のスペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの 8～12 位の間に位置する、請求項 168 に記載の方法。

【請求項 170】

前記オリゴヌクレオチドが、第 3 のスペーサーをさらに含み、前記第 3 のスペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの 18～22 位の間に位置する、請求項 169 に記載の方法。

【請求項 171】

前記オリゴヌクレオチドが、第 2 のスペーサーおよび第 3 のスペーサーをさらに含み、3 つの前記スペーサーが、前記オリゴヌクレオチドの各セグメントが多くとも 7 個の結合型ヌクレオシドを有するような前記オリゴヌクレオチド内の位置に位置する、請求項 160 に記載の方法。

【請求項 172】

3 つの前記スペーサーの少なくとも 2 つが、グアニン核酸塩基に隣接している、請求項 171 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 173】

3つの前記スペーサーの前記少なくとも2つのそれぞれが、グアニン核酸塩基の直前にある、請求項172に記載の方法。

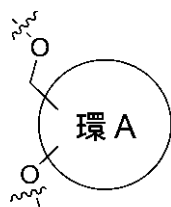
【請求項 174】

前記第1のスペーサー、前記第2のスペーサー、または前記第3のスペーサーのそれぞれが、非糖置換物を含むヌクレオシド置換基であり、前記非糖置換物が、ケトン、アルデヒド、ケタール、ヘミケタール、アセタール、ヘミアセタール、アミナールまたはヘミアミナール部分を含み、かつヌクレオチド塩基と共有結合を形成することができない、請求項160～173のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 175】

前記第1のスペーサー、前記第2のスペーサー、または前記第3のスペーサーのそれぞれが、独立に、式(X)：

【化16】



式 (X)

10

20

により表され、

環 A が、任意選択で置換された 4～8 員の単環式シクロアルキル基または 4～8 員の単環式ヘテロシクリル基であり、前記ヘテロシクリル基が、O、S および N から選択される 1 つまたは 2 つのヘテロ原子を含むが、ただし、A は核酸塩基との共有結合を形成することができず；

記号

【化17】



30

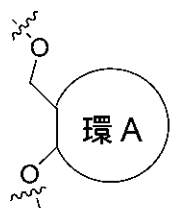
が、ヌクレオシド間結合との接続点を表す、

請求項160～173のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 176】

前記第1のスペーサー、前記第2のスペーサー、または前記第3のスペーサーのそれぞれが、独立に、式(Xa)：

【化18】



式 (Xa)

40

により表される、請求項175に記載の方法。

【請求項 177】

環 A が、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチルおよびシク

50

ロオクチルから選択される、任意選択で置換された 4～8 員の単環式シクロアルキル基；
またはオキセタニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、1，4－ジオキサ
ニル、ピロリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、モルホリニルおよびアゼパニルから
選択される、4～8 員の単環式ヘテロシクリル基である、請求項 175 または 176 に記
載の方法。

【請求項 178】

環 A が、テトラヒドロフラニルである、請求項 177 に記載の方法。

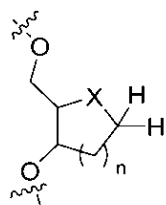
【請求項 179】

環 A が、テトラヒドロピラニルである、請求項 177 に記載の方法。

【請求項 180】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれ
ぞれが、独立に、式 (I)：

【化 19】



式 (I)

により表され、

X が、－CH₂－および－O－から選択され；

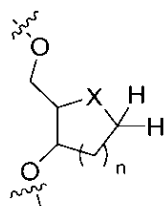
n が、0、1、2 または 3 である、

請求項 160～173 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 181】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれ
ぞれが、独立に、式 (I')：

【化 20】



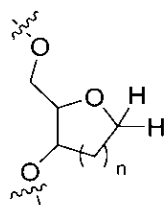
式 (I')

により表される、請求項 160～173 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 182】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれ
ぞれが、独立に、式 (Ia)：

【化 21】



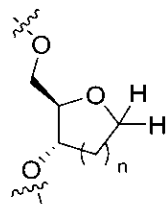
式 (Ia)

により表される、請求項 160～173 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 183】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 (Ia') :

【化 22】



式 (Ia')

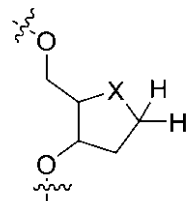
10

により表される、請求項 160～173 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 184】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 II :

【化 23】



式 (II)

20

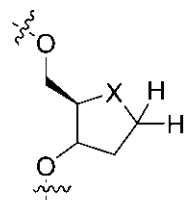
により表され ;

X が、-CH₂-および-O-から選択される、
請求項 160～173 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 185】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 II' :

【化 24】



式 (II')

30

により表され ;

X が、-CH₂-および-O-から選択される、
請求項 160～173 のいずれか一項に記載の方法。

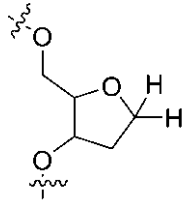
【請求項 186】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 (IIa) :

40

50

【化 2 5】



式 (IIa)

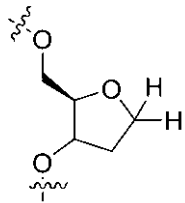
により表される、請求項 1 6 0 ～ 1 7 3 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 1 8 7】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 (I I a ') :

【化 2 6】



式 (IIa')

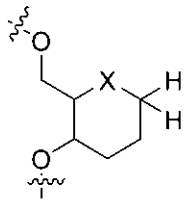
20

により表される、請求項 1 6 0 ～ 1 7 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 8 8】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 I I I :

【化 2 7】



式 (III)

30

により表され；

X が、 $-CH_2-$ および $-O-$ から選択される、

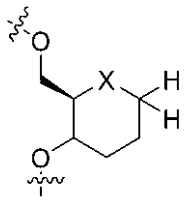
請求項 1 6 0 ～ 1 7 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 8 9】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 I I I ' :

40

【化 2 8】



式 (III')

50

により表され；

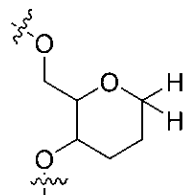
X が、 $-CH_2-$ および $-O-$ から選択される、

請求項 160～173 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 190】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 (IIIa)：

【化 29】



式 (IIIa)

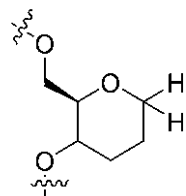
10

により表される、請求項 160～173 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 191】

前記第 1 のスペーサー、前記第 2 のスペーサー、または前記第 3 のスペーサーのそれぞれが、独立に、式 (IIIa')：

【化 30】



式 (IIIa')

20

により表される、請求項 160～173 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 192】

前記スペーサーを含む前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 10% の GC 含量を有する、請求項 160～191 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 193】

前記スペーサーを含む前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 20% の GC 含量を有する、請求項 160～192 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 194】

前記スペーサーを含む前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 25% の GC 含量を有する、請求項 160～193 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 195】

前記スペーサーを含む前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 30% の GC 含量を有する、請求項 160～194 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 196】

前記スペーサーを含む前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 40% の GC 含量を有する、請求項 160～195 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 197】

前記スペーサーを含む前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 50% の GC 含量を有する、請求項 160～196 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

30

40

50

本出願は、一般に、転写物を標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチド、特に1つまたは複数のスパーサーを有するアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いて神経学的疾患を処置する方法に関する。

【0002】

関連出願の相互参照

本出願は、2020年6月3日出願の米国仮特許出願第63/033,926号明細書および2020年12月1日出願の米国仮特許出願第63/119,717号明細書の利益および優先権を主張し、そのそれぞれの全開示は、目的の如何を問わず、本明細書により参考としてそのまま組み込まれる。

【0003】

配列リスト

本出願は、ASCIIフォーマットで電子的に提出され、そして本明細書により参考としてそのまま組み込まれている配列リストを含有する。2021年5月28作成の前記ASCIIのコピーは、QRL-006WO__SL.txtと命名され、そのサイズは510,394バイトである。

【背景技術】

【0004】

運動ニューロン疾患は、運動ニューロン（脳による筋肉の随意運動を司るニューロン）の変性および死を引き起こす神経学的疾患の1クラスである。運動ニューロン疾患は、散発性または遺伝性であり得るが、また上位運動ニューロンおよび／または下位運動ニューロンに影響を及ぼすおそれがある。運動ニューロン疾患として、筋萎縮性側索硬化症、進行性球麻痺、仮性球麻痺、原発性側索硬化症、進行性筋萎縮症、脊髄性筋萎縮症、およびボストポリオ症候群が挙げられる。

【0005】

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は、アメリカ合衆国において約15,000人が罹患している運動ニューロン疾患の1群である。ALSは、上位および下位運動ニューロンの変性および死により特徴づけられ、随意筋のコントロール喪失を引き起こす。運動ニューロン死は筋攣縮および萎縮を伴う。ALSの初期症状として、有痛性筋攣縮、筋痙縮、筋力低下（例えば、腕、脚、頸部、または横隔膜に影響を及ぼす）、不明瞭な鼻声、および咀嚼または嚥下困難が挙げられる。発話、摂食、および呼吸に必要な運動上の強度およびコントロールの喪失が最終的に生ずる。疾患進行には、体重減少、栄養不良、不安、鬱病が付随する可能性があり、肺炎、有痛性筋攣縮、ニューロパシー、およびおそらくは認知症のリスクが高まる。ALSと診断されたほとんどの個体は、症状が最初に現れたときから5年以内に呼吸不全により死亡する。現在のところ、ALSに対する有効な処置法は存在しない。

【0006】

ALSはあらゆる年齢の個体において生ずるが、しかし55～75歳の個体において最も一般的であり、男性の発病率の方が若干高い。ALSは、散発性または家族性として特徴づけることができる。散発性ALSは、ランダムに生ずるように見え、またALSの全発病の90%超を占める。家族性ALSは、ALSの全発病の5～10%を占める。

【0007】

FTDとは、脳の前頭葉および側頭葉においてニューロンが失われることにより引き起こされる進行性神経変性疾患のスペクトルを指す。FTDは、3番目に一般的な認知症の形態（アルツハイマー病およびレビー小体型認知症に次ぐ）であり、65歳未満の個体において2番目に一般的な認知症の形態である。FTDは、アメリカ合衆国において20,000～30,000人が罹患していると推定される。FTDは、行動および人格の変化、ならびに言語機能障害により特徴づけられる。FTDの形態として、行動障害型FTD（bvFTD）、意味型原発性進行性失語症（svPPA）、および非流暢型原発性進行性失語症（nfvPPA）が挙げられる。FTDを伴うALSは、ALSの症状、例えば筋力低下、萎縮、線維束性収縮、痙縮、啞（構音障害）、および嚥下困難（嚥下障害）等

10

20

30

40

50

と共に、F T Dと関連する症状により特徴づけられる。個体はF T Dにより5～10年以内に通常死亡する一方、F T Dを伴うA L Sは、疾患症状が最初に現れてから2～3年以内に多くの場合死を引き起こす。

【0008】

A L Sと同様に、F T DまたはF T Dを伴うA L Sに対する治療法は知られておらず、疾患の進行を予防または遅延させる治療薬も知られていない。

【0009】

したがって、神経学的疾患、例えば筋萎縮性側索硬化症（A L S）、前頭側頭型認知症（F T D）、F T Dを伴うA L S、アルツハイマー病（A D）、パーキンソン病（P D）、ハンチントン病、進行性核上性麻痺（P S P）、頭部外傷、脊髄損傷、皮質基底核変性症（C B D）、神経損傷（例えば、腕神経叢損傷）、ニューロパシー（例えば、化学療法誘発性のニューロパシー）、ならびにT D P 4 3プロテインノパシー（例えば、慢性外傷性脳症、ペリー症候群、アルツハイマー病と関連するレビー小体型認知症、認知症を伴うまたは伴わないパーキンソン病、および辺縁系優位型加齢性T D P - 4 3脳症（L A T E））を、予防、改善、および処置することができる化合物および／または組成物を特定する、という喫緊の必要性が存在する。

10

【0010】

R N A結合タンパク質であるトランスアクティブレスポンスD N A結合タンパク質4 3（T D P - 4 3）は、R N Aの転写、スプライシング、および輸送を含む、基本的なR N A処理活性に関与している。T D P - 4 3は、3'非翻訳領域との結合を介するそれ自体のm R N Aの自己調節を含め、数千ものプレメッセンジャーR N A／m R N A標的と、G Uに富んだ配列に対して高い親和性で結合する。その他の点では正常な成人神経系からT D P - 4 3が低下すると、長鎖イントロン含有転写物を含む、1, 500を超えるR N Aのスプライシングまたは発現レベルが変化する。Melamed et al., Nat Neurosci. (2019), 22(2):180-190を参照。

20

【0011】

罹患したニューロンでは、A L Sの大半の事例において、またF T Dを有する患者のおよそ45%において、T D P - 4 3の細胞質内蓄積および核的損耗が報告されている。Melamed et al., Nat Neurosci. (2019), 22(2):180-190を参照。それに加えて、T D P - 4 3は、ニューロン伸長関連因子スタスミン2（S T M N 2）の発現を制御することが明らかにされている。Melamed (2019)を参照；Klim et al., Nat Neurosci. (2019), 22(2):167-179も参照。S T M N 2は、正常な運動ニューロンの増殖および修復に必要なタンパク質をコードする。Melamed (2019)を参照；Klim (2019)も参照。T D P - 4 3破壊により、スタスミン2プレm R N Aのイントロン1において中途（premature）ポリアデニル化および異常なスプライシングが助長され、非機能的m R N Aが生ずることが明らかにされている。Melamed (2019)を参照。

30

【発明の概要】

【0012】

1つまたは複数のスパーサーを含み、S T M N 2転写物の等長部分に対して85～98%相補的である配列を含むオリゴヌクレオチドについて本明細書に記載される。1つの態様では、本開示は、S T M N 2転写物（例えば、隠れエクソンを含むS T M N 2転写物）を標的とするS T M N 2オリゴヌクレオチドを提供する。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、運動ニューロン疾患および／またはニューロパシーを含む神経学的疾患を処置するために、転写物を標的とする。例えば、S T M N 2オリゴヌクレオチドは、P D、A L S、F T D、およびF T Dを伴うA L Sを処置するのに使用可能である。

40

【0013】

1つの態様では、本開示は、配列番号1339もしくは配列番号1341、その90%の同一性を有する配列のいずれか1つの等長部分、またはその15～50個の連続核酸塩基部分に対して85～98%相補的である配列を含む改変されたオリゴヌクレオチドを含む化合物であって、オリゴヌクレオチドの少なくとも1つ（すなわち、1つまたは複数）

50

のヌクレオシド結合が、非天然結合であり、さらに、オリゴヌクレオチドが、スパーサーを含む、化合物を提供する。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、多くとも11個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含む。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、多くとも10、9、または8個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含む。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含む。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、多くとも6、5、4、3、または2個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含む。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドの各セグメントは、多くとも7個の結合型ヌクレオシドを含む。

【0014】

様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、配列番号1～466、配列番号893～1338、配列番号1342～1366、または配列番号1392～1664のいずれか1つの等長部分と少なくとも85%の同一性を共有する配列を含む。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、配列番号1～466、配列番号893～1338、配列番号1342～1366、または配列番号1392～1664のいずれか1つの等長部分と少なくとも90%の同一性を共有する配列を含む。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、配列番号1451～1664のいずれか1つの等長部分と95%の同一性を共有する配列を含む。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、配列番号1451～1664のいずれか1つの等長部分と100%の同一性を共有する配列を含む。

【0015】

様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、多くとも11個の結合型ヌクレオシドまたは多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含み、オリゴヌクレオチドは、配列番号1339の位置144～168、173～197、185～209、または237～261のいずれか1つに含まれる等長部分に対して85～98%相補的である配列を含む。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、多くとも11個の結合型ヌクレオシドまたは多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含み、オリゴヌクレオチドは、配列番号1339の位置144～164、144～166、145～167、146～166、146～168、147～165、または148～168のいずれか1つに含まれる核酸塩基の等長部分に対して85～98%相補的である配列を含む。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、多くとも11個の結合型ヌクレオシドまたは多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含み、オリゴヌクレオチドは、配列番号1339の位置173～191、173～193、173～195、173～197、175～195、175～197、177～197、または179～197のいずれか1つに含まれる核酸塩基の等長部分に対して85～98%相補的である配列を含む。

【0016】

様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、多くとも11個の結合型ヌクレオシドまたは多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含み、オリゴヌクレオチドは、配列番号1339の位置185～205、187～209、189～209、または191～209のいずれか1つに含まれる核酸塩基の等長部分に対して85～98%相補的である配列を含む。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、多くとも11個の結合型ヌクレオシドまたは多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含み、オリゴヌクレオチドは、配列番号1339の位置237～255、237～259、239～259、239～261、241～261、または243～261のいずれか1つに含まれる核酸塩基の等長部分に対して85～98%相補的である配列を含む。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、多くとも6、5、4、3、または2個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含み、オリゴヌクレオチドは、配列番号1339の位置144～168、173～197、185～209、または237～261のいずれか1つに含まれる核酸塩基の等長部分に対して85～98%相補的である配列を含む。

【0017】

様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、多くとも6、5、4、3、または2個の

結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含み、オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 3 3 9 の位置 1 4 4 ~ 1 6 4、1 4 4 ~ 1 6 6、1 4 5 ~ 1 6 7、1 4 6 ~ 1 6 6、1 4 6 ~ 1 6 8、1 4 7 ~ 1 6 5、1 4 8 ~ 1 6 8、1 7 3 ~ 1 9 1、1 7 3 ~ 1 9 3、1 7 3 ~ 1 9 5、1 7 3 ~ 1 9 7、1 7 5 ~ 1 9 5、1 7 5 ~ 1 9 7、1 7 7 ~ 1 9 7、1 7 9 ~ 1 9 7、1 8 5 ~ 2 0 5、1 8 7 ~ 2 0 9、1 8 9 ~ 2 0 9、1 9 1 ~ 2 0 9、2 3 7 ~ 2 5 5、2 3 7 ~ 2 5 9、2 3 9 ~ 2 5 9、2 3 9 ~ 2 6 1、2 4 1 ~ 2 6 1、または 2 4 3 ~ 2 6 1 のいずれか 1 つに含まれる核酸塩基の等長部分に対して 8 5 ~ 9 8 % 相補的である配列を含む。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、多くとも 1 1 個の結合型ヌクレオシドまたは多くとも 7 個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含み、オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 ~ 4 6 6、配列番号 8 9 3 ~ 1 3 3 8、配列番号 1 3 4 2 ~ 1 3 6 6、または配列番号 1 3 9 2 ~ 1 6 6 4 のいずれか 1 つの等長部分と少なくとも 8 5 % の同一性を共有する配列を含む。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、多くとも 6、5、4、3、または 2 個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含み、オリゴヌクレオチドは、配列番号 3 6、5 5、1 4 4、1 7 3、1 7 7、1 8 1、1 8 5、1 9 7、2 0 3、2 0 9、2 1 5、2 3 7、2 4 4、2 5 2、3 8 0、3 8 5、3 9 0、3 9 5、4 0 0、9 2 8、9 4 7、1 0 3 6、1 0 6 5、1 0 6 9、1 0 7 3、1 0 7 7、1 0 8 9、1 0 9 5、1 1 0 1、1 1 0 7、1 1 2 9、1 1 3 6、1 1 4 4、1 2 7 2、1 2 7 7、1 2 8 2、1 2 8 7、または 1 2 9 2 のいずれか 1 つの等長部分と少なくとも 8 5 % の同一性を共有する配列を含む。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、多くとも 6、5、4、3、または 2 個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含み、オリゴヌクレオチドは、配列番号 3 6、5 5、1 4 4、1 7 3、1 7 7、1 8 1、1 8 5、1 9 7、2 0 3、2 0 9、2 1 5、2 3 7、2 4 4、2 5 2、3 8 0、3 8 5、3 9 0、3 9 5、4 0 0、9 2 8、9 4 7、1 0 3 6、1 0 6 5、1 0 6 9、1 0 7 3、1 0 7 7、1 0 8 9、1 0 9 5、1 1 0 1、1 1 0 7、1 1 2 9、1 1 3 6、1 1 4 4、1 2 7 2、1 2 7 7、1 2 8 2、1 2 8 7、または 1 2 9 2 のいずれか 1 つの等長部分と少なくとも 9 0 % の同一性を共有する配列を含む。

10

20

30

40

50

【0018】

様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、少なくとも 1 8、少なくとも 1 9、少なくとも 2 0、少なくとも 2 1、少なくとも 2 2、少なくとも 2 3、少なくとも 2 4、または少なくとも 2 5 個のオリゴヌクレオチド単位の長さである。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、少なくとも 1 9 個のオリゴヌクレオチド単位の長さである。様々な実施形態では、スペーサーは、ヌクレオチド塩基と結合することができない非糖置換物 (substitute) を含むヌクレオシド置換基 (nucleoside-replacement group) である。

【0019】

様々な実施形態では、スペーサーは、オリゴヌクレオチドの 1 0 ~ 1 5 位の間に位置する。様々な実施形態では、スペーサーは、オリゴヌクレオチドの 7 ~ 1 1 位の間に位置する。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、第 2 のスペーサーをさらに含み、第 2 のスペーサーは、オリゴヌクレオチドの 1 4 ~ 2 2 位の間に位置する。様々な実施形態では、スペーサーおよび第 2 のスペーサーは、オリゴヌクレオチド内の少なくとも 5 個の核酸塩基、少なくとも 6 個の核酸塩基、または少なくとも 7 個の核酸塩基により隔てられる。様々な実施形態では、スペーサーは、オリゴヌクレオチドの 7 ~ 9 位の間に位置し、第 2 のスペーサーは、オリゴヌクレオチドの 1 5 ~ 1 8 位の間に位置する。様々な実施形態では、スペーサーは、オリゴヌクレオチドの 8 位に位置し、第 2 のスペーサーは、オリゴヌクレオチドの 1 6 位に位置する。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、第 3 のスペーサーをさらに含み、第 3 のスペーサーは、オリゴヌクレオチドの 2 1 ~ 2 4 位の間に位置する。

【0020】

様々な実施形態では、スペーサーは、オリゴヌクレオチドの 2 ~ 5 位の間に位置する。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、第 2 のスペーサーをさらに含み、第 2 のスペーサーは、オリゴヌクレオチドの 8 ~ 1 2 位の間に位置する。様々な実施形態では、オ

リゴヌクレオチドは、第 3 のスペーサーをさらに含み、第 3 のスペーサーは、オリゴヌクレオチドの 18 ～ 22 位の間に位置する。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、第 2 のスペーサーおよび第 3 のスペーサーをさらに含み、3 つのスペーサーは、オリゴヌクレオチドの各セグメントが多くとも 7 個の結合型ヌクレオシドを有するようなオリゴヌクレオチド内の位置に位置する。様々な実施形態では、3 つのスペーサーの少なくとも 2 つは、グアニン核酸塩基に隣接している。様々な実施形態では、3 つのスペーサーの少なくとも 2 つのそれぞれは、グアニン核酸塩基の直前にある。

【0021】

様々な実施形態では、第 1、第 2 または第 3 のスペーサーのそれぞれは、非糖置換物を含むヌクレオシド置換基であり、非糖置換物は、ケトン、アルデヒド、ケタール、ヘミケタール、アセタール、ヘミアセタール、アミナールまたはヘミアミナール部分を含有せず、かつヌクレオチド塩基と共有結合を形成することができない。

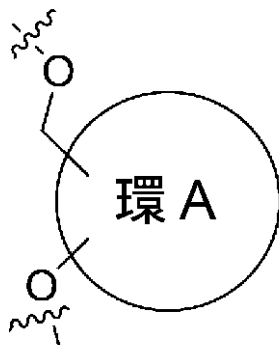
10

【0022】

ある特定の実施形態では、第 1、第 2 または第 3 のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 (X) :

【0023】

【化 1】



20

式 (X)

により表され、

30

環 A は、任意選択で置換された 4 ～ 8 員の単環式シクロアルキル基または 4 ～ 8 員の単環式ヘテロシクリル基であり、ヘテロシクリル基は、O、S および N から選択される 1 つまたは 2 つのヘテロ原子を含有するが、ただし、A は核酸塩基との共有結合を形成することができず；

記号

【0024】

【化 2】



40

は、ヌクレオシド間結合との接続点を表す。

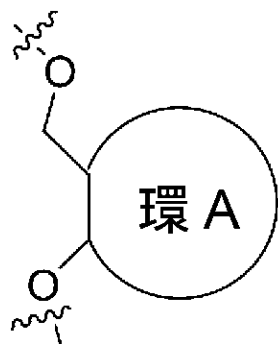
【0025】

様々な実施形態では、第 1、第 2 または第 3 のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 (X a) :

【0026】

50

【化 3】



式 (Xa)

10

により表される。

【0027】

一部の実施形態では、環 A は、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチルおよびシクロオクチルから選択される、任意選択で置換された 4～8 員の単環式シクロアルキル基；またはオキセタニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、1,4-ジオキサニル、ピロリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、モルホリニルおよびアゼパニルから選択される、4～8 員の単環式ヘテロシクリル基である。

20

【0028】

さらなる実施形態では、環 A は、テトラヒドロフラニルである。

【0029】

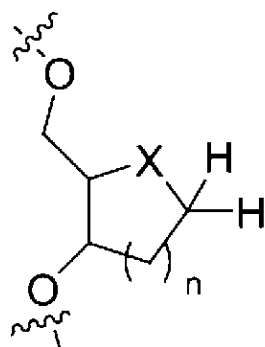
他の実施形態では、環 A は、テトラヒドロピラニルである。

【0030】

様々な実施形態では、第 1、第 2 または第 3 のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 I

【0031】

【化 4】



式 (I)

30

40

により表され、

X は、 $-CH_2-$ および $-O-$ から選択され；

n は、0、1、2 または 3 である。

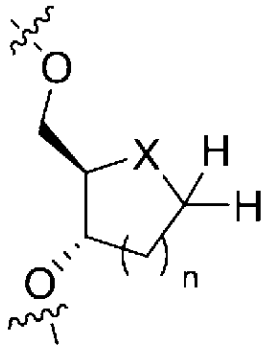
【0032】

様々な実施形態では、第 1、第 2 または第 3 のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 I

【0033】

50

【化 5】



式 (I')

10

により表され、

X は、 $-CH_2-$ および $-O-$ から選択され；

n は、0、1、2 または 3 である。

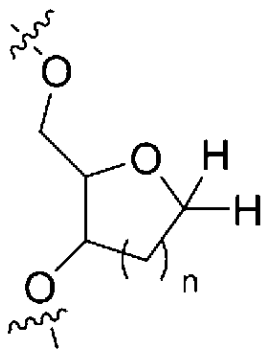
【0034】

様々な実施形態では、第 1、第 2 または第 3 のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 (I a)：

【0035】

20

【化 6】



式 (Ia)

30

により表され；

n は、0、1、2 または 3 である。

【0036】

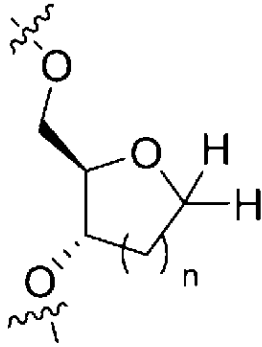
様々な実施形態では、第 1、第 2 または第 3 のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 (I a')：

【0037】

40

50

【化 7】



式 (Ia')

10

により表され；

n は、0、1、2 または 3 である。

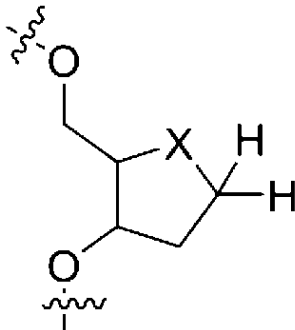
【0038】

ある特定の実施形態では、第 1、第 2 または第 3 のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 I I：

【0039】

【化 8】

20



式 (II)

30

により表され；

X は、 $-CH_2-$ および $-O-$ から選択される。

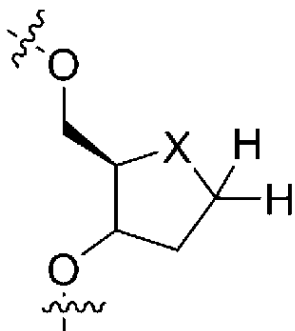
【0040】

さらなる実施形態では、第 1、第 2 または第 3 のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 I I'：

【0041】

【化 9】

40



式 (II')

により表され；

50

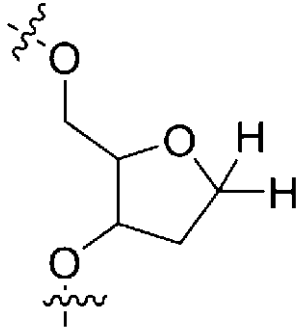
Xは、 $-CH_2-$ および $-O-$ から選択される。

【0042】

様々な実施形態では、第1、第2または第3のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 (IIa) :

【0043】

【化10】



式 (IIa)

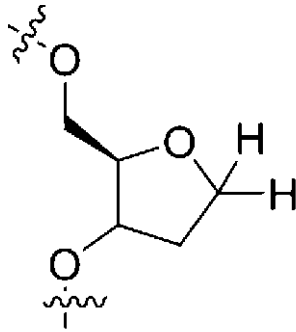
により表される。

【0044】

さらなる実施形態では、第1、第2または第3のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 (IIa') :

【0045】

【化11】



式 (IIa')

により表される。

【0046】

様々な実施形態では、第1、第2または第3のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 II :

【0047】

10

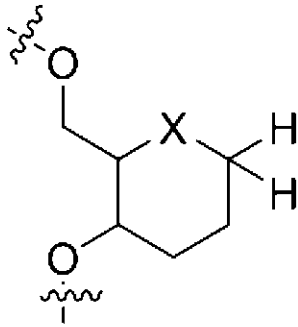
20

30

40

50

【化 1 2】



式 (III)

10

アンチセンス治療薬

により表され；

Xは、 $-CH_2-$ および $-O-$ から選択される。

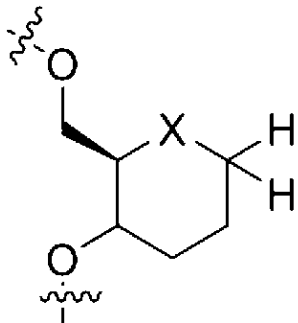
【0048】

さらなる実施形態では、第1、第2または第3のスペーサーのそれぞれは、独立に、式
 III'：

【0049】

【化 1 3】

20



式 (III')

30

により表され；

Xは、 $-CH_2-$ および $-O-$ から選択される。

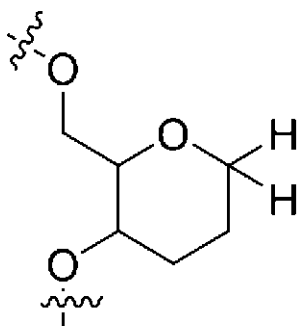
【0050】

一部の実施形態では、第1、第2または第3のスペーサーのそれぞれは、独立に、式（
 IIIa）：

【0051】

【化 1 4】

40



式 (IIIa)

により表される。

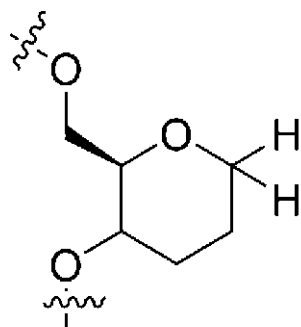
50

【0052】

さらなる実施形態では、第1、第2または第3のスペーサーのそれぞれは、独立に、式(IIIa'):

【0053】

【化15】



式 (IIIa')

10

により表される。

【0054】

様々な実施形態では、スペーサーを含むオリゴヌクレオチドは、少なくとも10%のGC含量を有する。様々な実施形態では、スペーサーを含むオリゴヌクレオチドは、少なくとも20%のGC含量を有する。様々な実施形態では、スペーサーを含むオリゴヌクレオチドは、少なくとも25%のGC含量を有する。様々な実施形態では、スペーサーを含むオリゴヌクレオチドは、少なくとも30%のGC含量を有する。様々な実施形態では、スペーサーを含むオリゴヌクレオチドは、少なくとも40%のGC含量を有する。様々な実施形態では、スペーサーを含むオリゴヌクレオチドは、少なくとも50%のGC含量を有する。

20

【0055】

様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、12~40個のオリゴヌクレオチド単位の長さである。

【0056】

様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドの少なくとも1つ(すなわち、1つまたは複数)のヌクレオシド結合は、ホスホジエステル結合、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィナート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホルアミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、ホスホロジアミデート(例えば、ホスホロジアミデートモルホリノ(PMO)、3'-アミノリボース、または5'-アミノリボースを含む)結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合からなる群から独立に選択される。

30

40

【0057】

様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドの3位または4位の塩基を結合する1つまたは複数のヌクレオシド結合は、ホスホジエステル結合である。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドの3位または4位の塩基を結合する1つのヌクレオシド結合のみが、ホスホジエステル結合である。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドの3位および4位の両方の塩基を結合するヌクレオシド結合が、ホスホジエステル結合である。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチド内のスペーサーの直前の1つまたは複数の塩基は、ホスホジエステル結合を通じて結合している。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチド内のスペーサーの直前の塩基のみが、ホスホジエステル結合を通じてスペーサーと結合している。

50

様々な実施形態では、オリゴヌクレオチド内のスパーサーの直前の塩基は、ホスホジエステル結合を通じてさらなる前の塩基とさらに結合している。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、第2のスパーサーを含み、第2のスパーサーの直前の塩基は、ホスホジエステル結合を通じてさらなる前の塩基と結合している。

【0058】

様々な実施形態では、オリゴヌクレオチド内のスパーサーの直後の1つまたは複数の塩基は、ホスホジエステル結合を通じて結合している。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチド内のスパーサーの直後の塩基のみが、ホスホジエステル結合を通じてスパーサーと結合している。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチド内のスパーサーの直前の2つの塩基は、ホスホジエステル結合を通じて結合している。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチド内のスパーサーの直前の1つまたは複数の塩基は、ホスホジエステル結合を通じて結合しており、オリゴヌクレオチド内のスパーサーの直後の1つまたは複数の塩基は、ホスホジエステル結合を通じて結合している。様々な実施形態では、スパーサーの直前の1つの塩基およびスパーサーの直後の1つの塩基は、ホスホジエステル結合を通じて結合している。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、第2のスパーサーを含み、オリゴヌクレオチド内の第2のスパーサーの直前の1つまたは複数の塩基は、ホスホジエステル結合を通じて結合しており、オリゴヌクレオチド内の第2のスパーサーの直後の1つまたは複数の塩基は、ホスホジエステル結合を通じて結合している。様々な実施形態では、第2のスパーサーの直前の1つの塩基および第2のスパーサーの直後の1つの塩基は、ホスホジエステル結合を通じて結合している。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ホスホジエステル結合を通じて結合している一連の塩基を含み、一連の塩基は、少なくとも2つの塩基を含む。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ホスホジエステル結合を通じて結合している一連の塩基を含み、一連の塩基は、少なくとも5つの塩基を含む。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、2つまたはそれより多くのスパーサーを含み、一連の塩基は、少なくとも2つのスパーサーの間に配置される。

10

20

【0059】

配列番号1～466、配列番号893～1338、配列番号1342～1366、または配列番号1392～1664のいずれか1つの等長部分に対して少なくとも90%の同一性を共有する核酸塩基配列を含むオリゴヌクレオチドを含む化合物が本明細書に追加的に開示される。配列番号1～466、配列番号893～1338、配列番号1342～1366、または配列番号1392～1664のいずれか1つの等長部分に対して少なくとも90%の同一性を共有する核酸塩基配列を含むオリゴヌクレオチドが本明細書に追加的に開示される。様々な実施形態では、核酸塩基配列は、配列番号1～466、配列番号893～1338、配列番号1342～1366、または配列番号1392～1664のいずれか1つの等長部分に対して少なくとも95%の同一性を共有する。様々な実施形態では、核酸塩基配列は、配列番号1～466、配列番号893～1338、配列番号1342～1366、または配列番号1392～1664のいずれか1つの等長部分に対して少なくとも100%の同一性を共有する。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、19mer、21mer、23mer、または25merのいずれか1つである。

30

【0060】

様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間結合は、改変されたヌクレオシド間結合である。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドの改変されたヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合である。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドのすべてのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合である。様々な実施形態では、ホスホロチオエート結合は、RpコンフィギュレーションまたはSpコンフィギュレーションのうちの1つである。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つの改変型糖部分を含む。様々な実施形態では、改変型糖部分は、2'-OMe（改変型糖部分、二環式糖部分、2'-O-（2-メトキシエチル）（MOE）、2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオシド、2'-フルオロ-β-D-アラビノヌクレオシド、ロックド核酸（LNA）、三環式核酸、拘束エチル2'-4'-架橋型核酸（cEt）、S-cEt

40

50

、t c D N A、ヘキシトール核酸（H N A）、および三環系アナログ（例えば、t c D N A）のうちの1つである。

【0061】

様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、完全長S T M N 2タンパク質の、少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、または90%の増加を呈する。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、完全長S T M N 2タンパク質の少なくとも100%の増加を呈する。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、完全長S T M N 2タンパク質の少なくとも200%の増加を呈する。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、完全長S T M N 2タンパク質の少なくとも300%の増加を呈する。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、完全長S T M N 2タンパク質の少なくとも400%の増加を呈する。様々な実施形態では、完全長S T M N 2タンパク質の増加は、T D P 4 3アンチセンスオリゴヌクレオチドを使用して達成される完全長S T M N 2タンパク質の低下したレベルとの比較において測定される。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、完全長S T M N 2タンパク質の、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、または100%のレスキューを呈する。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、隠れエクソンを有するS T M N 2転写物の、少なくとも50%、60%、70%、80%、または90%の低下を呈する。

10

【0062】

それを必要としている患者における神経学的疾患および／またはニューロパシーを処置する方法であって、上記に開示されるオリゴヌクレオチドのうちのいずれかのオリゴヌクレオチドを患者に投与するステップを含む方法が追加的に開示される。様々な実施形態では、神経学的疾患は、筋萎縮性側索硬化症（A L S）、前頭側頭型認知症（F T D）、F T Dを伴うA L S、アルツハイマー病（A D）、パーキンソン病（P D）、ハンチントン病、進行性核上性麻痺（P S P）、頭部外傷、脊髄損傷、皮質基底核変性症（C B D）、神経損傷（例えば、腕神経叢損傷）、ニューロパシー（例えば、化学療法誘発性のニューロパシー）、ならびにT D P 4 3プロテインノパシー（例えば、慢性外傷性脳症、ペリー症候群、アルツハイマー病と関連するレビー小体型認知症、認知症を伴うまたは伴わないパーキンソン病、および辺縁系優位型加齢性T D P - 4 3脳症（L A T E））からなる群から選択される。様々な実施形態では、神経学的疾患は、A L Sである。様々な実施形態では、神経学的疾患は、F T Dである。様々な実施形態では、神経学的疾患は、F T Dを伴うA L Sである。様々な実施形態では、ニューロパシーは、化学療法誘発性のニューロパシーである。

20

30

【0063】

ニューロンの軸索伸長および／または再生を修復する方法であって、運動ニューロンを、上記に開示されるオリゴヌクレオチドのうちのいずれかのオリゴヌクレオチドに曝露するステップを含む方法が追加的に開示される。ニューロンにおけるS T M N 2発現および／または機能を増加、促進、安定化、または維持する方法であって、細胞を、上記に開示されるオリゴヌクレオチドのうちのいずれかのオリゴヌクレオチドに曝露するステップを含む方法が追加的に開示される。

【0064】

様々な実施形態では、ニューロンは、神経学的疾患および／またはニューロパシーの処置を必要としている患者のニューロンである。様々な実施形態では、ニューロパシーは、化学療法誘発性のニューロパシーである。様々な実施形態では、曝露するステップは、i n v i v oまたはe x v i v oで実施される。様々な実施形態では、曝露するステップは、オリゴヌクレオチドを、それを必要としている患者に投与することを含む。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、局所、非経口、髄腔内、視床内、大槽内、経口、直腸内、頬側、舌下、腔内、肺内、気管内、鼻腔内、経皮、または十二指腸内投与される。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、経口投与される。様々な実施形態では、治療有効量のオリゴヌクレオチドは、髄腔内、視床内または大槽内投与される。様々な実施形態では、患者は、ヒトである。

40

50

【0065】

上記に開示されるオリゴヌクレオチドのうちのいずれか1つのオリゴヌクレオチド、または薬学的に許容されるその塩、および薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物が本明細書に追加的に開示される。様々な実施形態では、医薬組成物は、局所、髄腔内、視床内、大槽内、脳室内、非経口、経口、肺内、気管内、鼻腔内、経皮、直腸内、頬側、舌下、腔腔内、または十二指腸内投与に適する。

【0066】

それを必要としている患者における神経学的疾患またはニューロパシーを処置する方法であって、治療有効量の上記に開示される医薬組成物を、それを必要としている患者に投与するステップを含む方法が、本明細書でさらに開示される。様々な実施形態では、神経学的疾患は、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、前頭側頭型認知症（FTD）、FTDを伴うALS、アルツハイマー病（AD）、パーキンソン病（PD）、ハンチントン病、進行性核上性麻痺（PSP）、頭部外傷、脊髄損傷、皮質基底核変性症（CBD）、神経損傷（例えば、腕神経叢損傷）、ニューロパシー（例えば、化学療法誘発性のニューロパシー）、ならびにTDP43プロテインパシー（例えば、慢性外傷性脳症、ペリー症候群、アルツハイマー病と関連するレビー小体型認知症、認知症を伴うまたは伴わないパーキンソン病、および辺縁系優位型加齢性TDP-43脳症（LATE））からなる群から選択される。様々な実施形態では、神経学的疾患は、ALSである。様々な実施形態では、神経学的疾患は、FTDである。様々な実施形態では、神経学的疾患は、FTDを伴うALSである。様々な実施形態では、ニューロパシーは、化学療法誘発性のニューロパシーである。様々な実施形態では、医薬組成物は、局所、非経口、経口、肺内、直腸内、頬側、舌下、腔腔内、気管内、鼻腔内、大槽内、髄腔内、視床内、静脈内、筋肉内、経皮、または十二指腸内投与される。様々な実施形態では、医薬組成物は、髄腔内、視床内、脳室内、または大槽内投与される。様々な実施形態では、治療有効量のオリゴヌクレオチドは、髄腔内、視床内または大槽内投与される。様々な実施形態では、患者は、ヒトである。

【0067】

それを必要としている対象における神経学的疾患を処置するための方法であって、多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含むオリゴヌクレオチドであり、配列番号1～466、配列番号893～1338、配列番号1342～1366、もしくは配列番号1392～1664のいずれか1つと少なくとも85%の同一性を共有するオリゴヌクレオチド、または薬学的に許容されるその塩を対象に投与するステップを含み；オリゴヌクレオチドの少なくとも1つ（すなわち、1つまたは複数）のヌクレオシド結合が、ホスホジエステル結合、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィナート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホルアミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、ホスホロジアミデート（例えば、ホスホロジアミデートモルホリノ（PMO）、3'アミノリボース、または5'アミノリボースを含む）結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合からなる群から独立に選択され、ならびに／または少なくとも1つ（すなわち、1つまたは複数）のヌクレオシドが、2'-O-（2-メトキシエチル）ヌクレオシド、2'-O-メチルヌクレオシド、2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオシド、2'-フルオロ-β-D-アラビノヌクレオシド、ロックド核酸（LNA）、三環式核酸、拘束メトキシエチル（cMOE）、拘束エチル（cET）、およびペプチド核酸（PNA）からなる群から選択されるコンポーネントで置換されており、任意選択で、オリゴヌクレオチドが、スパーサーをさらに含む、方法が本明細書に追加的に開示される。

【0068】

それを必要としている対象におけるALSを処置するための方法であって、多くとも7

10

20

30

40

50

個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含むオリゴヌクレオチドであり、配列番号 1～466、配列番号 893～1338、配列番号 1342～1366、もしくは配列番号 1392～1664 のいずれか 1 つと少なくとも 85 % の同一性を共有するオリゴヌクレオチド、または薬学的に許容されるその塩を対象に投与するステップを含み；オリゴヌクレオチドの少なくとも 1 つ（すなわち、1 つまたは複数）のヌクレオシド結合が、ホスホジエステル結合、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィナート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホルアミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、ホスホロジアミデート（例えば、ホスホロジアミデートモルホリノ（PMO）、3'アミノリボース、または5'アミノリボースを含む）結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合からなる群から独立に選択され、ならびに／または少なくとも 1 つ（すなわち、1 つまたは複数）のヌクレオシドが、2'-O-（2-メトキシエチル）ヌクレオシド、2'-O-メチルヌクレオシド、2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオシド、2'-フルオロ-β-D-アラビノヌクレオシド、ロックド核酸（LNA）、三環式核酸、拘束メトキシエチル（cMOE）、拘束エチル（cET）、およびペプチド核酸（PNA）からなる群から選択されるコンポーネントで置換されており、任意選択で、オリゴヌクレオチドが、スパーサーをさらに含む、方法が本明細書に追加的に開示される。

10

20

【0069】

それを必要としている対象における FTD を処置するための方法であって、多くとも 7 個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含むオリゴヌクレオチドであり、配列番号 1～466、配列番号 893～1338、配列番号 1342～1366、もしくは配列番号 1392～1664 のいずれか 1 つと少なくとも 85 % の同一性を共有するオリゴヌクレオチド、または薬学的に許容されるその塩を対象に投与するステップを含み；オリゴヌクレオチドの少なくとも 1 つ（すなわち、1 つまたは複数）のヌクレオシド結合が、ホスホジエステル結合、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィナート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホルアミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、ホスホロジアミデート（例えば、ホスホロジアミデートモルホリノ（PMO）、3'アミノリボース、または5'アミノリボースを含む）結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合からなる群から独立に選択され、ならびに／または少なくとも 1 つ（すなわち、1 つまたは複数）のヌクレオシドが、2'-O-（2-メトキシエチル）ヌクレオシド、2'-O-メチルヌクレオシド、2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオシド、2'-フルオロ-β-D-アラビノヌクレオシド、ロックド核酸（LNA）、三環式核酸、拘束メトキシエチル（cMOE）、拘束エチル（cET）、およびペプチド核酸（PNA）からなる群から選択されるコンポーネントで置換されており、任意選択で、オリゴヌクレオチドが、スパーサーをさらに含む、方法が本明細書に追加的に開示される。

30

40

【0070】

それを必要としている対象における FTD を伴う ALS を処置するための方法であって、多くとも 7 個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含むオリゴヌクレオチドであり、配列番号 1～466、配列番号 893～1338、配列番号 1342～1366、もしくは配列番号 1392～1664 のいずれか 1 つと少なくとも 85 % の同一性を共有するオリゴヌクレオチド、または薬学的に許容されるその塩を対象に投与するステップを含

50

み；オリゴヌクレオチドの少なくとも1つ（すなわち、1つまたは複数）のヌクレオシド結合が、ホスホジエステル結合、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィネート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホルアミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、ホスホロジアミデート（例えば、ホスホロジアミデートモルホリノ（PMO）、3'アミノリボース、または5'アミノリボースを含む）結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合からなる群から独立に選択され、ならびに／または少なくとも1つ（すなわち、1つまたは複数）のヌクレオシドが、2'-O-（2-メトキシエチル）ヌクレオシド、2'-O-メチルヌクレオシド、2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオシド、2'-フルオロ-β-D-アラビノヌクレオシド、ロックド核酸（LNA）、三環式核酸、拘束メトキシエチル（cMOE）、拘束エチル（cET）、およびペプチド核酸（PNA）からなる群から選択されるコンポーネントで置換されており、任意選択で、オリゴヌクレオチドが、スペーサーをさらに含む、方法が本明細書に追加的に開示される。

【0071】

様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドの3位または4位の塩基を結合する1つまたは複数のヌクレオシド結合は、ホスホジエステル結合である。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドの3位または4位の塩基を結合する1つのヌクレオシド結合のみが、ホスホジエステル結合である。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドの3位および4位の両方の塩基を結合するヌクレオシド結合が、ホスホジエステル結合である。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチド内のスペーサーの直前の1つまたは複数の塩基は、ホスホジエステル結合を通じて結合している。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチド内のスペーサーの直前の塩基のみが、ホスホジエステル結合を通じてスペーサーと結合している。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチド内のスペーサーの直前の塩基は、ホスホジエステル結合を通じてさらなる前の塩基とさらに結合している。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、第2のスペーサーを含み、第2のスペーサーの直前の塩基は、ホスホジエステル結合を通じてさらなる前の塩基と結合している。

【0072】

様々な実施形態では、オリゴヌクレオチド内のスペーサーの直後の1つまたは複数の塩基は、ホスホジエステル結合を通じて結合している。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチド内のスペーサーの直後の塩基のみが、ホスホジエステル結合を通じてスペーサーと結合している。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチド内のスペーサーの直前の2つの塩基は、ホスホジエステル結合を通じて結合している。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチド内のスペーサーの直前の1つまたは複数の塩基は、ホスホジエステル結合を通じて結合しており、オリゴヌクレオチド内のスペーサーの直後の1つまたは複数の塩基は、ホスホジエステル結合を通じて結合している。様々な実施形態では、スペーサーの直前の1つの塩基およびスペーサーの直後の1つの塩基は、ホスホジエステル結合を通じて結合している。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、第2のスペーサーを含み、オリゴヌクレオチド内の第2のスペーサーの直前の1つまたは複数の塩基は、ホスホジエステル結合を通じて結合しており、オリゴヌクレオチド内の第2のスペーサーの直後の1つまたは複数の塩基は、ホスホジエステル結合を通じて結合している。様々な実施形態では、第2のスペーサーの直前の1つの塩基および第2のスペーサーの直後の1つの塩基は、ホスホジエステル結合を通じて結合している。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ホスホジエステル結合を通じて結合している一連の塩基を含み、一連の塩基は、少なくとも2つの塩基を含む。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ホスホジエステル結合を通じて結合している一連の塩基を含み、一連の塩基は、少なくとも5つの塩基を含む。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、2つまたはそれより多くのスペーサー

を含み、一連の塩基は、少なくとも2つのスパーサーの間に配置される。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、19mer、21mer、23mer、または25merのいずれか1つである。

【0073】

様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドの少なくとも1つ（すなわち、1つまたは複数）のヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合である。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドのすべてのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合である。

【0074】

オリゴヌクレオチドおよび薬学的に許容される賦形剤であって、オリゴヌクレオチドが、配列番号1339もしくは配列番号1341、その90%の同一性を有する配列のいずれか1つの等長部分、またはその15～50個の連続核酸塩基部分に対して85～98%相補的である配列を含み、オリゴヌクレオチドが、スパーサーを含み、オリゴヌクレオチドが、免疫媒介性脱髄疾患の細胞またはヒト患者における機能的STMN2の翻訳能力を有するSTMN2 mRNAの発現、ならびに／あるいはSTMN2タンパク質の活性および／または機能を増加、修復、または安定化させる能力を有し、発現ならびに／あるいは活性および／または機能を増加、修復、または安定化させるレベルが、免疫媒介性脱髄疾患を処置するための医薬としてオリゴヌクレオチドを使用するのに十分である、オリゴヌクレオチドおよび薬学的に許容される賦形剤が本明細書に追加的に開示される。

【0075】

様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、1つまたは複数のキラル中心および／または二重結合を含む。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、幾何異性体、エナンチオマー、およびジアステレオマーから選択される立体異性体として存在する。

【0076】

それを必要としている患者における神経学的疾患および／またはニューロパシーを処置する方法であって、治療有効量の上記に開示される医薬組成物を、それを必要としている患者に、第2の治療剤と組み合わせて投与するステップを含む方法が、本明細書でさらに開示される。様々な実施形態では、第2の治療剤は、前記神経学的疾患を処置するためのリルゾール（Rilutek）、エダラボン（Radicala）、リバスチグミン、ドネペジル、ガランタミン、選択的セロトニン再取り込み阻害薬、抗精神病薬、コリンエステラーゼ阻害剤、メマンチン、ベンゾジアゼピン抗不安薬、AMX0035（ELYBRIO）、ZILUCOPLAN（RA101495）、プリドピジン、デュアルAON髄腔内投与剤（例えば、BII B067、BII B078、およびBII B105）、BII B100、レボドパ／カルビドパ、ドーパミン作動薬（例えば、ロピニロール、プラミペキソール、ロチゴチン）、メドロキシプロゲステロン、KCNQ2／KCNQ3オープナー（例えば、レチガビン、XEN1101、QRL-101）、抗痙攣薬、および精神刺激剤、ならびに／または療法（例えば、ブリージングケア、物理療法、作業療法、言語障害療法、栄養支援から選択される）から選択される。

【0077】

それを必要としている患者における神経学的疾患および／またはニューロパシーを処置する方法であって、治療有効量の上記に開示される医薬組成物を、それを必要としている患者に投与するステップを含み、オリゴヌクレオチドの少なくとも1つ（すなわち、1つまたは複数）のヌクレオシド結合が、非天然結合であり、オリゴヌクレオチドが、スパーサーを含み、オリゴヌクレオチドが、コレステロール、リポ酸、パントテン酸、ポリエチレングリコール、および血液脳関門を通過するための抗体から選択される標的化またはコンジュゲート部分をさらに含む、方法が本明細書に追加的に開示される。

【0078】

様々な実施形態では、スパーサーは、ヌクレオチド塩基と結合することができない非糖置換物を含むヌクレオシド置換基である。様々な実施形態では、スパーサーは、オリゴヌクレオチドの10～15位の間に位置する。様々な実施形態では、スパーサーは、オリゴヌクレオチドの7～11位の間に位置する。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは

、第2のスペーサーをさらに含み、第2のスペーサーは、オリゴヌクレオチドの14～22位の間に位置する。様々な実施形態では、スペーサーおよび第2のスペーサーは、オリゴヌクレオチド内の少なくとも5個の核酸塩基、少なくとも6個の核酸塩基、または少なくとも7個の核酸塩基により隔てられる。様々な実施形態では、スペーサーは、オリゴヌクレオチドの7～9位の間に位置し、第2のスペーサーは、オリゴヌクレオチドの15～18位の間に位置する。様々な実施形態では、スペーサーは、オリゴヌクレオチドの8位に位置し、第2のスペーサーは、オリゴヌクレオチドの16位に位置する。

【0079】

様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、第3のスペーサーをさらに含み、第3のスペーサーは、オリゴヌクレオチドの21～24位の間に位置する。様々な実施形態では、スペーサーは、オリゴヌクレオチドの2～5位の間に位置する。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、第2のスペーサーをさらに含み、第2のスペーサーは、オリゴヌクレオチドの8～12位の間に位置する。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、第3のスペーサーをさらに含み、第3のスペーサーは、オリゴヌクレオチドの18～22位の間に位置する。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、第2のスペーサーおよび第3のスペーサーをさらに含み、3つのスペーサーは、オリゴヌクレオチドの各セグメントが多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有するようなオリゴヌクレオチド内の位置に位置する。

10

【0080】

様々な実施形態では、3つのスペーサーの少なくとも2つは、グアニン核酸塩基に隣接している。様々な実施形態では、3つのスペーサーの少なくとも2つのそれぞれは、グアニン核酸塩基の直前にある。

20

【0081】

本明細書に記載の方法の様々な実施形態では、第1、第2または第3のスペーサーのそれぞれは、非糖置換物を含むヌクレオシド置換基であり、非糖置換物は、ケトン、アルデヒド、ケタール、ヘミケタール、アセタール、ヘミアセタール、アミナールまたはヘミアミナール部分を含有せず、かつヌクレオチド塩基と共有結合を形成することができない。

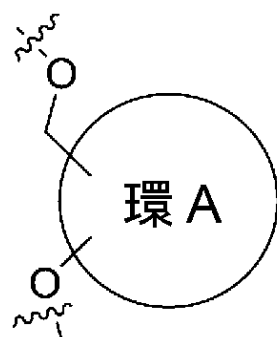
【0082】

ある特定の実施形態では、第1、第2または第3のスペーサーのそれぞれは、独立に、式(X)：

30

【0083】

【化16】



式 (X)

40

により表され、

環Aは、任意選択で置換された4～8員の単環式シクロアルキル基または4～8員の単環式ヘテロシクリル基であり、ヘテロシクリル基は、O、SおよびNから選択される1つまたは2つのヘテロ原子を含有するが、ただし、Aは核酸塩基との共有結合を形成することができず；

記号

【0084】

50

【化 17】



は、ヌクレオシド間結合との接続点を表す。

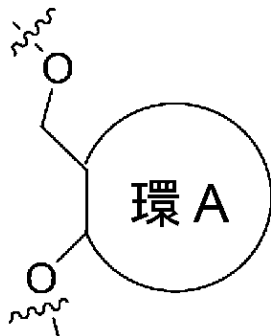
【0085】

様々な実施形態では、第1、第2または第3のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 (Xa) :

【0086】

10

【化 18】



式 (Xa)

20

により表される。

【0087】

一部の実施形態では、環 A は、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチルおよびシクロオクチルから選択される、任意選択で置換された 4～8 員の単環式シクロアルキル基；またはオキセタニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、1,4-ジオキサニル、ピロリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、モルホリニルおよびアゼパニルから選択される、4～8 員の単環式ヘテロシクリル基である。

【0088】

30

さらなる実施形態では、環 A は、テトラヒドロフラニルである。

【0089】

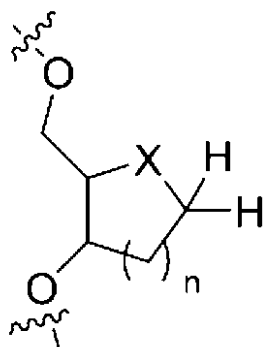
他の実施形態では、環 A は、テトラヒドロピラニルである。

【0090】

様々な実施形態では、第1、第2または第3のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 (I) :

【0091】

【化 19】



式 (I)

40

50

により表され、

X は、 $-\text{CH}_2-$ および $-\text{O}-$ から選択され；

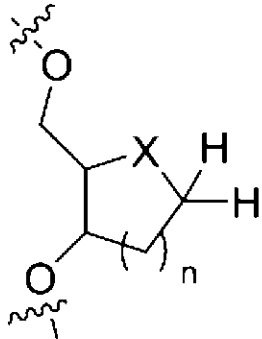
n は、0、1、2 または 3 である。

【0092】

様々な実施形態では、スペーサーまたは第 2 のスペーサーは、式 (I')：

【0093】

【化 20】



式 (I')

10

により表され、

X は、 $-\text{CH}_2-$ および $-\text{O}-$ から選択され；

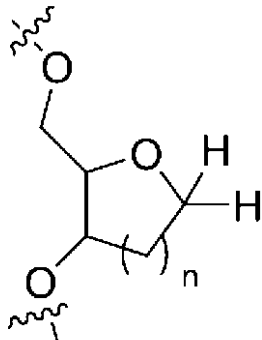
n は、0、1、2 または 3 である。

【0094】

様々な実施形態では、第 1、第 2 または第 3 のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 (I a)：

【0095】

【化 21】



式 (Ia)

30

により表され；

n は、0、1、2 または 3 である。

【0096】

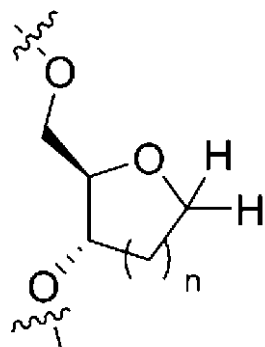
様々な実施形態では、第 1、第 2 または第 3 のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 (I a')：

【0097】

40

50

【化 2 2】



式 (Ia')

10

により表され；

n は、0、1、2 または 3 である。

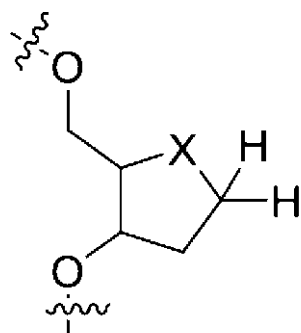
【0098】

ある特定の実施形態では、第 1、第 2 または第 3 のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 I I：

【0099】

【化 2 3】

20



式 (II)

30

により表され；

X は、 $-CH_2-$ および $-O-$ から選択される。

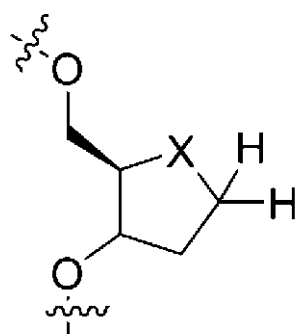
【0100】

さらなる実施形態では、第 1、第 2 または第 3 のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 I I'：

【0101】

【化 2 4】

40



式 (II')

により表され；

50

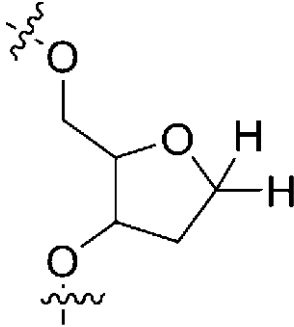
Xは、 $-CH_2-$ および $-O-$ から選択される。

【0102】

様々な実施形態では、第1、第2または第3のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 (IIa) :

【0103】

【化25】



式 (IIa)

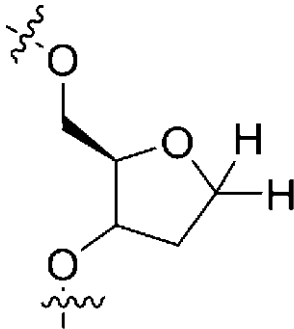
により表される。

【0104】

さらなる実施形態では、第1、第2または第3のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 (IIa') :

【0105】

【化26】



式 (IIa')

により表される。

【0106】

様々な実施形態では、第1、第2または第3のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 II :

【0107】

10

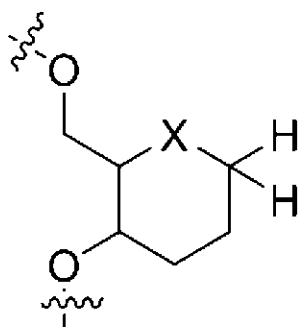
20

30

40

50

【化 2 7】



式 (III)

10

により表され；

X は、 $-CH_2-$ および $-O-$ から選択される。

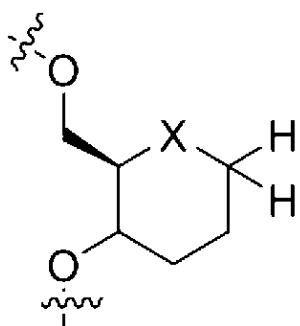
【0108】

さらなる実施形態では、第 1、第 2 または第 3 のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 I I I' :

【0109】

【化 2 8】

20



式 (III')

30

により表され；

X は、 $-CH_2-$ および $-O-$ から選択される。

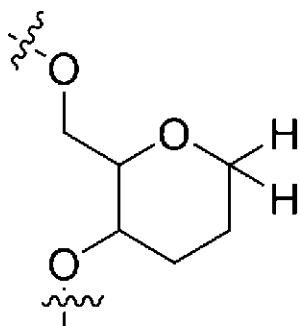
【0110】

一部の実施形態では、第 1、第 2 または第 3 のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 (I I I a) :

【0111】

【化 2 9】

40



式 (IIIa)

により表される。

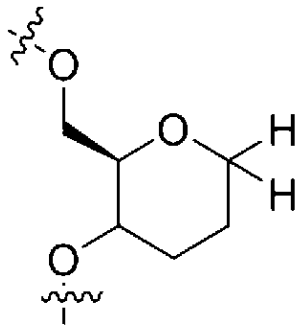
【0112】

50

さらなる実施形態では、第 1、第 2 または第 3 のスペーサーのそれぞれは、独立に、式 (IIIa') :

【0113】

【化30】



式 (IIIa')

により表される。

【0114】

様々な実施形態では、スペーサーを含むオリゴヌクレオチドは、少なくとも 10% の GC 含量を有する。様々な実施形態では、スペーサーを含むオリゴヌクレオチドは、少なくとも 20% の GC 含量を有する。様々な実施形態では、スペーサーを含むオリゴヌクレオチドは、少なくとも 25% の GC 含量を有する。様々な実施形態では、スペーサーを含むオリゴヌクレオチドは、少なくとも 30% の GC 含量を有する。様々な実施形態では、スペーサーを含むオリゴヌクレオチドは、少なくとも 40% の GC 含量を有する。様々な実施形態では、スペーサーを含むオリゴヌクレオチドは、少なくとも 50% の GC 含量を有する。

【図面の簡単な説明】

【0115】

【図 1】図 1 は、STMN2 転写物の部分および STMN2 転写物のある特定の部分を標的化するために設計された STMN2 アンチセンスオリゴヌクレオチドの図式的描写である。

【図 2】図 2 は、TDP43 アンチセンスの存在下での TDP43 および STMN2 全長 mRNA レベルの RT-qPCR 分析の結果、ならびに 6 つの異なる STMN2 親オリゴヌクレオチド（配列番号 36、配列番号 55、配列番号 177、配列番号 203、配列番号 244、および配列番号 395）の存在下での全長 STMN2 転写物の回復を示す棒グラフである。

【図 3】図 3 は、TDP43 アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有する STMN2 転写物の mRNA レベルの RT-qPCR 分析の結果、ならびに 6 つの異なる STMN2 親オリゴヌクレオチド（配列番号 173、配列番号 181、配列番号 197、配列番号 215、配列番号 385、および配列番号 400）の存在下での隠れエクソンを有する STMN2 転写物の mRNA レベルの低減を示す棒グラフである。

【図 4】図 4 は、TDP43 アンチセンスの存在下での STMN2 全長 mRNA レベルの RT-qPCR 分析の結果、ならびに 6 つの異なる STMN2 親オリゴヌクレオチド（配列番号 173、配列番号 181、配列番号 197、配列番号 215、配列番号 385、および配列番号 400）の存在下での全長 STMN2 転写物の回復を示す棒グラフである。

【図 5A】図 5A は、TDP43 アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有する STMN2 転写物の mRNA レベルの RT-qPCR 分析の結果、ならびに 6 つの異なる STMN2 親オリゴヌクレオチド（配列番号 185、配列番号 209、配列番号 237、配列番号 252、配列番号 380、および配列番号 390）の存在下での隠れエクソンを有する STMN2 転写物の mRNA レベルの低減を示す棒グラフである。

【図 5B】図 5B は、TDP43 アンチセンスの存在下での STMN2 全長 mRNA レベ

ルの RT-qPCR 分析の結果、ならびに 6 つの異なる STMN2 親オリゴヌクレオチド（配列番号 185、配列番号 209、配列番号 237、配列番号 252、配列番号 380、および配列番号 390）の存在下での全長 STMN2 転写物の回復を示す棒グラフである。

【図 6 A】図 6 A は、2 回の 2 連の実験にかけての TDP43 アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有する STMN2 転写物の mRNA レベルの RT-qPCR 分析の結果、ならびに 2 つの異なる STMN2 親オリゴヌクレオチド（配列番号 144 および配列番号 237）の存在下での隠れエクソンを有する STMN2 転写物の mRNA レベルの低減を示す棒グラフである。

【図 6 B】図 6 B は、2 回の 2 連の実験にかけての TDP43 アンチセンスの存在下での STMN2 全長 mRNA レベルの RT-qPCR 分析の結果、ならびに 2 つの異なる STMN2 親オリゴヌクレオチド（配列番号 144 および配列番号 237）の存在下での全長 STMN2 転写物の回復を示す棒グラフである。

【図 7 A】図 7 A は、TDP43 アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有する STMN2 転写物の mRNA レベルの RT-qPCR 分析の結果、ならびに 5 つの異なる STMN2 親オリゴヌクレオチド（配列番号 36、配列番号 173、配列番号 177、配列番号 181、および配列番号 185）の存在下での隠れエクソンを有する STMN2 転写物の mRNA レベルの低減を示す棒グラフである。

【図 7 B】図 7 B は、TDP43 アンチセンスの存在下での STMN2 全長 mRNA レベルの RT-qPCR 分析の結果、ならびに 5 つの異なる STMN2 親オリゴヌクレオチド（配列番号 36、配列番号 173、配列番号 177、配列番号 181、および配列番号 185）の存在下での全長 STMN2 転写物の回復を示す棒グラフである。

【図 8 A】図 8 A は、TDP43 アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有する STMN2 転写物の mRNA レベルの RT-qPCR 分析の結果、ならびに 5 つの異なる STMN2 親オリゴヌクレオチド（配列番号 197、配列番号 203、配列番号 237、配列番号 380、および配列番号 395）の存在下での隠れエクソンを有する STMN2 転写物の mRNA レベルの低減を示す棒グラフである。

【図 8 B】図 8 B は、TDP43 アンチセンスの存在下での STMN2 全長 mRNA レベルの RT-qPCR 分析の結果、ならびに 5 つの異なる STMN2 親オリゴヌクレオチド（配列番号 197、配列番号 203、配列番号 237、配列番号 380、および配列番号 395）の存在下での全長 STMN2 転写物の回復を示す棒グラフである。

【図 9 A】図 9 A は、TDP43 siRNA および TDP43 アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有する STMN2 転写物の mRNA レベルの RT-qPCR 分析の結果、ならびに 3 つの異なる STMN2 親オリゴヌクレオチド（配列番号 144、配列番号 173、および配列番号 237）の存在下での隠れエクソンを有する STMN2 転写物の mRNA レベルの低減を示す棒グラフである。

【図 9 B】図 9 B は、TDP43 siRNA および TDP43 アンチセンスの存在下での TDP43 および STMN2 全長 mRNA レベルの RT-qPCR 分析の結果、ならびに 3 つの異なる STMN2 親オリゴヌクレオチド（配列番号 144、配列番号 173、および配列番号 237）の存在下での全長 STMN2 転写物の回復を示す棒グラフである。

【図 10 A】図 10 A は、TDP43 siRNA および TDP43 アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有する STMN2 転写物の mRNA レベルの RT-qPCR 分析の結果、ならびに配列番号 181 STMN2 親オリゴヌクレオチドの異なる投薬量にわたる隠れエクソンを有する STMN2 転写物の mRNA レベルの低減を示す棒グラフである。

【図 10 B】図 10 B は、TDP43 siRNA および TDP43 アンチセンスの存在下での TDP43 および STMN2 全長 mRNA レベルの RT-qPCR 分析の結果、ならびに配列番号 181 STMN2 親オリゴヌクレオチドの異なる投薬量にわたる全長 STMN2 転写物の回復を示す棒グラフである。

【図 11 A】図 11 A は、TDP43 siRNA および TDP43 アンチセンスの存在

10

20

30

40

50

下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号185 STMN2親オリゴヌクレオチドの異なる投薬量にわたる隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。

【図11B】図11Bは、TDP43 siRNAおよびTDP43アンチセンスの存在下でのTDP43およびSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号185 STMN2親オリゴヌクレオチドの異なる投薬量にわたる全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。

【図12A】図12Aは、TDP43 siRNAおよびTDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号197 STMN2親オリゴヌクレオチドの異なる投薬量にわたる隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。

10

【図12B】図12Bは、TDP43 siRNAおよびTDP43アンチセンスの存在下でのTDP43およびSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号197 STMN2親オリゴヌクレオチドの異なる投薬量にわたる全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。

【図13A】図13Aは、TDP43 siRNAおよびTDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号144 STMN2親オリゴヌクレオチドの異なる投薬量にわたる隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。

20

【図13B】図13Bは、TDP43 siRNAおよびTDP43アンチセンスの存在下でのTDP43およびSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号144 STMN2親オリゴヌクレオチドの異なる投薬量にわたる全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。

【図14A】図14Aは、TDP43 siRNAおよびTDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号173 STMN2親オリゴヌクレオチドの異なる投薬量にわたる隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。

30

【図14B】図14Bは、TDP43 siRNAおよびTDP43アンチセンスの存在下でのTDP43およびSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号173 STMN2親オリゴヌクレオチドの異なる投薬量にわたる全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。

【図15A】図15Aは、TDP43 siRNAおよびTDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号237 STMN2親オリゴヌクレオチドの異なる投薬量にわたる隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。

40

【図15B】図15Bは、TDP43 siRNAおよびTDP43アンチセンスの存在下でのTDP43およびSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号237 STMN2親オリゴヌクレオチドの異なる投薬量にわたる全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。

【図16】図16は、タンパク質プロット、ならびにTDP43 siRNAおよびTDP43アンチセンスの存在下でのSTMN2全長mRNAレベルの正規化された量、および2つの異なるSTMN2親オリゴヌクレオチド（配列番号173および配列番号237）についての全長STMN2転写物の回復を示す定量化された棒グラフである。

【図17】図17Aは、TDP43 siRNAおよびTDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、

50

果、ならびに配列番号237 STMN2親オリゴヌクレオチドの異なるバリエーションを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。図17Bは、TDP43 siRNAおよびTDP43アンチセンスの存在下でのTDP43およびSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号237 STMN2親オリゴヌクレオチドの異なるバリエーションを使用した全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。

【図18】図18Aは、TDP43 siRNAおよびTDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号185 STMN2親オリゴヌクレオチドの異なるバリエーションを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。図18Bは、TDP43 siRNAおよびTDP43アンチセンスの存在下でのTDP43およびSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号185 STMN2親オリゴヌクレオチドの異なるバリエーションを使用した全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。

10

【図19】図19Aは、TDP43 siRNAおよびTDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号173 STMN2親オリゴヌクレオチドの異なるバリエーションを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。図19Bは、TDP43 siRNAおよびTDP43アンチセンスの存在下でのTDP43およびSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号173 STMN2親オリゴヌクレオチドの異なるバリエーションを使用した全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。

20

【図20】図20Aは、TDP43 siRNAおよびTDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号237 STMN2親オリゴヌクレオチドの異なるバリエーションを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。図20Bは、TDP43 siRNAおよびTDP43アンチセンスの存在下でのTDP43およびSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号237 STMN2親オリゴヌクレオチドの異なるバリエーションを使用した全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。

30

【図21】図21Aは、TDP43 siRNAおよびTDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号173 STMN2親オリゴヌクレオチドの異なるバリエーションを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。図21Bは、TDP43 siRNAおよびTDP43アンチセンスの存在下でのTDP43およびSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号173 STMN2親オリゴヌクレオチドの異なるバリエーションを使用した全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。

【図22】図22Aは、TDP43 siRNAおよびTDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号144 STMN2親オリゴヌクレオチドの異なるバリエーションを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。図22Bは、TDP43 siRNAおよびTDP43アンチセンスの存在下でのTDP43およびSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号144 STMN2親オリゴヌクレオチドの異なるバリエーションを使用した全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。

40

【図23】図23は、プロテアソーム阻害の増加を考慮したとしても配列番号237 STMN2親オリゴヌクレオチドを使用した隠れエクソン誘発の逆転を示す棒グラフである。

【図24】図24は、STMN2 AONの濃度の増加に伴う全長STMN2転写物の回

50

復の増加を示す用量応答曲線を示す。

【図25A】図25Aは、STMN2 AONのより高い濃度に応答した全長STMN2タンパク質の定性的増加を実証するタンパク質ブロットアッセイを示す。

【図25B】図25Bは、STMN2 AONの異なる濃度に応答したGAPDHに対して正規化された全長STMN2タンパク質の定量化されたレベルを示す。

【図26A】図26Aは、TDP43 siRNAおよびTDP43 アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号144 AON、2つのスペーサー（配列番号1589）を有する配列番号144 AON、配列番号173 AON、2つのスペーサー（配列番号1590）を有する配列番号173、配列番号237 AON、および2つのスペーサー（配列番号1591）を有する配列番号237 AONを含む異なるSTMN2 AONを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。

10

【図26B】図26Bは、TDP43 siRNAおよびTDP43 アンチセンスの存在下でのTDP43およびSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号144 AON、2つのスペーサー（配列番号1589）を有する配列番号144 AON、配列番号173 AON、2つのスペーサー（配列番号1590）を有する配列番号173、配列番号237 AON、および2つのスペーサー（配列番号1591）を有する配列番号237 AONを含む異なるSTMN2 AONを使用した全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。

20

【図27A】図27Aは、TDP43 アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号173、配列番号1608、配列番号1609、配列番号1610、配列番号1611、配列番号1612、配列番号1613、配列番号1614、配列番号1615、配列番号1596、配列番号1597、および配列番号1418を含む異なるSTMN2 AONを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。

【図27B】図27Bは、TDP43 アンチセンスの存在下でのTDP43およびSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号173、配列番号1608、配列番号1609、配列番号1610、配列番号1611、配列番号1612、配列番号1613、配列番号1614、配列番号1615、配列番号1596、配列番号1597、および配列番号1418を含む異なるSTMN2 AONを使用した全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。

30

【図28A】図28Aは、TDP43 アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号173、配列番号1632、配列番号1346、配列番号1631、配列番号1353、および配列番号1598を含む異なるSTMN2 AONを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。

【図28B】図28Bは、TDP43 アンチセンスの存在下でのTDP43およびSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号173、配列番号1632、配列番号1346、配列番号1631、配列番号1353、および配列番号1598を含む異なるSTMN2 AONを使用した全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。

40

【図29A】図29Aは、TDP43 アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号173および配列番号1610を含む異なるSTMN2 AONを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。

【図29B】図29Bは、TDP43 アンチセンスの存在下でのTDP43およびSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号173および配列番号1610を含む異なるSTMN2 AONを使用した全長STMN2転写物の回復

50

を示す棒グラフである。

【図30A】図30Aは、TDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号185および配列番号1635を含む異なるSTMN2 AONを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。

【図30B】図30Bは、TDP43アンチセンスの存在下でのTDP43およびSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号185および配列番号1635を含む異なるSTMN2 AONを使用した全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。

【図31A】図31Aは、TDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号1347、配列番号1633、および配列番号1634を含む異なるSTMN2 AONを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。

10

【図31B】図31Bは、TDP43アンチセンスの存在下でのTDP43およびSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号1347、配列番号1633、および配列番号1634を含む異なるSTMN2 AONを使用した全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。

【図32】図32Aは、TDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号197、配列番号1617、配列番号1618、および配列番号1619を含む異なるSTMN2 AONを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。図32Bは、TDP43アンチセンスの存在下でのTDP43およびSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号197、配列番号1617、配列番号1618、および配列番号1619を含む異なるSTMN2 AONを使用した全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。

20

【図33】図33Aは、TDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号252、配列番号1650、配列番号1434、配列番号1651、および配列番号1620を含む異なるSTMN2 AONを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。図33Bは、TDP43アンチセンスの存在下でのTDP43およびSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号252、配列番号1650、配列番号1434、配列番号1651、および配列番号1620を含む異なるSTMN2 AONを使用した全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。

30

【図34A】図34Aは、TDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号1434および配列番号1620を含む異なるSTMN2 AONを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。

【図34B】図34Bは、TDP43アンチセンスの存在下でのTDP43およびSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号1434および配列番号1620を含む異なるSTMN2 AONを使用した全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。

40

【図35】図35は、TDP43アンチセンスを用いた処置後の正規化されたSTMN2タンパク質レベルならびに配列番号144、配列番号1589、配列番号173、配列番号1616、配列番号237、および配列番号1591を含むSTMN2 AONを使用した回復を示す棒グラフである。

【発明を実施するための形態】

【0116】

本開示の特性およびその他の詳細事項が、ここでより具体的に記載される。本明細書、

50

実施例、および添付の特許請求の範囲において採用されるある特定の用語をここにまとめる。これらの定義は、本開示の残りの部分も考慮して読み取られ、また当業者により理解される通りであるべきである。別途定義されない限り、本明細書で使用されるすべての技術的および科学的用語は、当業者により一般的に理解される意味と同一の意味を有する。

【0117】

遺伝子から転写された転写物の領域を標的とする能力を有するオリゴヌクレオチドが、本明細書では開示される。様々な実施形態では、このようなオリゴヌクレオチドは、STMN2転写物を標的とする。加えて、アンチセンスオリゴヌクレオチド配列を含むオリゴヌクレオチド、ならびにそれを使用した、筋萎縮性側索硬化症および前頭側頭型認知症などの神経学的疾患、ならびに／または化学療法誘発性のニューロパシーなどのニューロパシーを処置するための方法が本明細書では開示される。一実施形態では、オリゴヌクレオチドは、STMN2転写物の隠れエクソン配列を標的とし、それにより、隠れエクソン配列を有するSTMN2転写物のレベルを低減する。神経学的疾患および／またはニューロパシーを処置するための、隠れエクソンを含むSTMN2転写物の領域を標的とするSTMN2オリゴヌクレオチドを含む医薬組成物、ならびに神経学的疾患および／またはニューロパシーの処置に使用されるべき隠れエクソンを含むSTMN2転写物の領域を標的とする開示されたSTMN2オリゴヌクレオチドを含有する医薬の製造もまた開示される。

10

【0118】

定義

【0119】

用語「～を処置する」、「処置」、「～を処置すること」等は、所望の薬理学的および／または生理学的効果を取得することを一般的に意味するのに、本明細書において使用される。効果は、疾患および／または疾患に帰属される副作用の部分的または完全な治療に関して治療的であり得る。用語「処置」は、本明細書で使用される場合、哺乳動物、特にヒトにおける疾患のあらゆる処置をカバーし、そして（a）疾患を阻害すること、すなわち疾患の重症度もしくは範囲が増加するのを防止すること；（b）疾患を軽減すること、すなわち疾患の一部もしくは全部について改善を引き起こすこと；または（c）疾患の再発を防止すること、すなわち疾患の症状の処置または疾患の処置についてこれまでに奏功した後、疾患が活動状態に逆戻りすることを防止することが含まれる。

20

【0120】

「～を予防すること」には、臨床症状、合併症、または態状、障害、疾患、または状態に罹患している、または罹患しやすいと考えられるが、しかし態状、障害、疾患、または状態の臨床的または亜臨床的症状をいまだ経験していない、または呈さない対象において発現する態状、障害、疾患、または状態の生化学的兆候の発生を遅延させることが含まれる。「～を予防すること」には、臨床症状、合併症、または対象におけるもしくは対象において発現する態状、障害、疾患、もしくは状態の生化学的兆候を予防的に処置することを含む、対象におけるまたは対象において発現する態状、障害、疾患、または状態を予防的に処置することが含まれる。

30

【0121】

用語「薬学的に許容される担体」または「薬学的に許容される賦形剤」とは、本明細書で使用される場合、薬学的投与に適合するあらゆるすべての溶媒、分散媒体、コーティング、等張剤および吸収遅延剤等を交換可能に指す。薬学的に活性な物質のためのそのような媒体および薬剤の使用は、当技術分野において周知されている。組成物は、補足的、付加的、または増強的な治療機能を提供するその他の活性化合物も含み得る。

40

【0122】

用語「薬学的組成物」とは、1つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤と共に製剤化される、本明細書で使用されるような、少なくとも1つの生物学的に活性な化合物、例えば本明細書に開示されるようなSTMN2アンチセンスオリゴヌクレオチド（AON）を含む組成物を指す。

【0123】

50

「個体」、「患者」、または「対象」は、交換可能に使用され、そして哺乳動物、好ましくはマウス、ラット、その他の齧歯類、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ウマ、またはヒト以外の霊長類、最も好ましくはヒトを含む、任意の動物を含む。本発明の化合物は、哺乳動物、例えばヒト等に投与可能であるが、しかしその他の哺乳動物、例えば獣医学的処置を必要とする動物等、例えば飼育動物（例えばイヌ、ネコ等）、家畜（例えばウシ、ヒツジ、ブタ、ウマ等）、および実験動物（例えばラット、マウス、モルモット、ヒト以外の霊長類等）にも投与可能である。一部の実施形態では、本発明の方法において処置される哺乳動物は、望ましくは、STMN2の発現および／または活性の調節が望まれる哺乳動物である。

【0124】

本明細書で使用される場合、「STMN2」（上頸神経節10タンパク質としても知られている）、スタスミン様2、SCGN10、SCG10、ニューロン増殖関連タンパク質、ニューロン特異的増殖関連タンパク質、またはタンパク質SCG10（上頸神経節NEARニューロン特異的10）とは、Entreze遺伝子ID番号11075により特定される遺伝子または遺伝子産物（例えば、遺伝子によりコードされるタンパク質またはmRNA転写物（pre-mRNAを含む））、およびその対立遺伝子バリエーション、ならびにヒト以外の種（例えば、ヒト以外の霊長類またはマウス）に見出されるオルソログを指す。

【0125】

用語「STMN2転写物」とは、隠れエクソンを含むSTMN2転写物を指す。隠れエクソンを含むこのようなSTMN2転写物は、STMN2pre-mRNA配列またはSTMN2成熟RNA配列であることができる。用語「隠れエクソンを含むSTMN2転写物」とは、1つまたは複数の隠れエクソン配列を含むSTMN2転写物を指す。

【0126】

用語「STMN2オリゴヌクレオチド」、「STMN2アンチセンスオリゴヌクレオチド」、または「STMN2 AON」とは、完全長STMN2の活性、例えば完全長STMN2の発現、例えば完全長STMN2mRNAおよび／または完全長STMN2タンパク質の発現を増加、修復、または安定化させる能力を有するオリゴヌクレオチドを指す。一般的に、STMN2オリゴヌクレオチドは、隠れエクソンを含むSTMN2転写物を標的とすることにより、隠れエクソンを有する成熟したSTMN2転写物のレベルを低下させる。例えば、STMN2オリゴヌクレオチドは、STMN2pre-mRNAの成熟前のポリアダニル化を抑制すること、および／またはSTMN2の活性もしくは機能を増加させるか、回復させるか、もしくは安定化することにより、隠れエクソンを有する成熟STMN2転写物のレベルを低減する。様々な実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドは、配列番号1339もしくは配列番号1341に対して、または配列番号1339もしくは配列番号1341の連続15～50個の核酸塩基部分に対して、少なくとも90%の同一性の配列を含む転写物の等長部分に対して、85～98%相補的である配列を含む。

【0127】

様々な実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドは、1つまたは複数のスペーサーを有することにより特徴づけられ、それぞれのスペーサーは、STMN2オリゴヌクレオチドを結合型ヌクレオシドのセグメントに分ける。様々な実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドは、2つのスペーサーを有する。一実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドは、1つのスペーサーによって分離された結合型ヌクレオシドの2つのセグメントを有する。一実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドは、2つのスペーサーによって分離された結合型ヌクレオシドの3つのセグメントを有する。このような実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドは、多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有する1つのセグメントを有する。例えば、STMN2オリゴヌクレオチドは、5'から3'末端の向きに、5個の結合型ヌクレオシド、続いてスペーサー、10個の結合型ヌクレオシド、続いて第2のスペーサー、および8個の結合型ヌクレオシドを有してもよい。したがって、5個の結合型ヌクレオシドの第1のセグメントは、多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有する1つのセグメントを満たす。様々な実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチド

10

20

30

40

50

は、STMN2オリゴヌクレオチドを4つのセグメントに分ける3つのスペーサーを有する。様々な実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドの4つのセグメントのそれぞれは、多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有する。

【0128】

本明細書で使用される場合、用語「STMN2オリゴヌクレオチド」は、「STMN2親オリゴヌクレオチド」、「1つまたは複数のスペーサーを有するSTMN2オリゴヌクレオチド」（例えば、2つのスペーサーを有するSTMN2オリゴヌクレオチドまたは3つのスペーサーを有するSTMN2オリゴヌクレオチド）、「1つまたは複数のスペーサーを有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエント」を包含する。STMN2オリゴヌクレオチドの例として、配列番号1～466、配列番号893～1338、配列番号1342～1366、および配列番号1392～1664のいずれか1つの配列を含むオリゴヌクレオチドが挙げられる。

10

【0129】

用語「STMN2親オリゴヌクレオチド」とは、隠れエクソンを有するSTMN2転写物を標的とし、全長STMN2活性、例えば、全長STMN2発現、例えば、全長STMN2 mRNAおよび／または全長STMN2タンパク質発現を増加させるか、回復させるか、または安定化する能力を有するオリゴヌクレオチドを指す。STMN2親オリゴヌクレオチドは、スペーサーを含まない。STMN2親オリゴヌクレオチドの例としては、配列番号1～446および配列番号893～1338のいずれか1つの配列を含むオリゴヌクレオチドが挙げられる。本明細書では以下で記載される場合、スペーサーを有するSTMN2オリゴヌクレオチドおよびSTMN2オリゴヌクレオチドバリエントは、対応するSTMN2親オリゴヌクレオチドに関して記載される。

20

【0130】

用語「STMN2オリゴヌクレオチドバリエント」とは、改変型の対応するSTMN2親オリゴヌクレオチドを表すSTMN2オリゴヌクレオチドを指す。例えば、STMN2オリゴヌクレオチドバリエントは、短縮型のSTMN2親オリゴヌクレオチドを表す。様々な実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドバリエントは、5mer、16mer、17mer、18mer、19mer、20mer、21mer、22merまたは23merのいずれか1つである。STMN2オリゴヌクレオチドバリエントの例としては、配列番号1342～1366または配列番号1392～1521のいずれか1つの配列を含むオリゴヌクレオチドが挙げられる。様々な実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドバリエントは、1つまたは複数のスペーサーを含む。このようなSTMN2オリゴヌクレオチドバリエントは、配列番号1342～1366および配列番号1392～1416のいずれか1つの配列を含む。

30

【0131】

用語「1つまたは複数のスペーサーを有するオリゴヌクレオチド」または「スペーサーを含むオリゴヌクレオチド」とは、少なくとも1つのスペーサーを有するオリゴヌクレオチドを指す。1つまたは複数のスペーサーを有するオリゴヌクレオチドは、様々な実施形態では、1つのスペーサー、2つのスペーサー、3つのスペーサー、4つのスペーサー、5つのスペーサー、6つのスペーサー、7つのスペーサー、8つのスペーサー、9つのスペーサー、または10のスペーサーを含むことができる。様々な実施形態では、1つまたは複数のスペーサーを含むオリゴヌクレオチドは、多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有する少なくとも1つのセグメントを含む。例えば、5'から3'の向きで記載される場合、スペーサーを含むオリゴヌクレオチドは、7個の結合型ヌクレオシドを有するセグメント、続いてスペーサー、9個の結合型ヌクレオシドを有する第2のセグメント、続いて第2のスペーサーおよび7個の結合型ヌクレオシドを有する第3のセグメントを含むことができる。本明細書では、7個の結合型ヌクレオシドの第1のセグメントおよび7個の結合型ヌクレオシドの第3のセグメントはそれぞれ、多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを表す。別の例として、スペーサーを含むオリゴヌクレオチドは、10個の結合型ヌクレオシドを有するセグメント、続いてスペーサー、10個の結合型ヌクレオ

40

50

シドを有する第2のセグメント、続いて第2のスペーサー、および3個の結合型ヌクレオシドを有する第3のセグメントを含むことができる。本明細書では、3個の結合型ヌクレオシドの第3のセグメントは、多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを表す。様々な実施形態では、1つまたは複数のスペーサーを有するオリゴヌクレオチドは、多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有する複数のセグメントを含む。様々な実施形態では、1つまたは複数のスペーサーを有するオリゴヌクレオチドのすべてのセグメントは、多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有する。例えば、オリゴヌクレオチドは、23merであってもよく、それぞれ23merを7個の結合型ヌクレオシドの3つの別々のセグメントに分ける2つのスペーサーを含んでもよい。それゆえ、オリゴヌクレオチドのそれぞれのセグメントは、多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有する。

10

【0132】

一般に、1つまたは複数のスペーサーを含むSTMN2オリゴヌクレオチドは、対応するSTMN2親オリゴヌクレオチドまたは対応するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーションと関連して記載される。例となる、1つまたは複数のスペーサーを含むSTMN2オリゴヌクレオチドは、配列番号1417～1420および配列番号1451～1664のいずれかを含む。

【0133】

本明細書では、用語「治療有効量」とは、研究者、獣医師、医師、または他の臨床医による探求対象とされている組織、システム、動物、またはヒトの生物学的または医学的応答を誘発するオリゴヌクレオチドの量を意味する。一実施形態では、オリゴヌクレオチドは、配列番号1339もしくは配列番号1341に対して、または配列番号1339もしくは配列番号1341の連続15～50個の核酸塩基部分に対して、少なくとも90%同一性の配列を含む転写物の等長部分に対して、85～98%相補的である配列を含む。オリゴヌクレオチドは、疾患、状態、障害、または態状、例えば、神経学的疾患および／またはニューロパシーを処置および／または予防するために、治療有効量で投与される。あるいは、オリゴヌクレオチドの治療有効量は、所望の治療上および／または予防上の効果を実現するのに必要とされる量、例えば運動ニューロンにおいてSTMN2活性低下と関連する疾患と関連する症状の予防または低減を引き起こす量等である。

20

【0134】

慣用句「STMN2転写物を標的とするSTMN2オリゴヌクレオチド」とは、STMN2転写物と結合するSTMN2オリゴヌクレオチドを指す。STMN2転写物の例となる領域は、表1に示され、それは、ブランチポイント（例えば、ブランチポイント1、2、および3）、3'スプライスアクセプター領域、ESE結合領域、TDP43結合部位、隠れエクソン、およびポリA領域の領域に対応する配列を示す。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のある領域と結合するが、該領域は、ブランチポイント（例えば、ブランチポイント1、2、および3）、3'スプライスアクセプター領域、ESE結合領域、TDP43結合部位、隠れエクソン、およびポリA領域のいずれから、核酸塩基75個以上離れない上流または下流に位置する。

30

【0135】

用語「薬学的に許容される塩（複数可）」とは、本明細書で使用される場合、本組成物において使用される、STMN2オリゴヌクレオチド内に存在し得る酸性基または塩基性基の塩を指す。本組成物内に含まれるSTMN2オリゴヌクレオチドは本質的に塩基性であり、様々な無機酸および有機酸と共に、多種多様な塩を形成することができる。そのような塩基性化合物の薬学的に許容される酸付加塩を調製するのに使用され得る酸は、無毒性の酸付加塩、すなわちリンゴ酸塩、シュウ酸塩、塩化物、臭化物、ヨウ化物、硝酸塩、硫酸塩、硫酸水素塩、リン酸塩、酸性リン酸塩、イソニコチン酸塩、酢酸塩、乳酸塩、サリチル酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、オレイン酸塩、タンニン酸塩、パントテン酸塩、酒石酸水素塩、アスコルビン酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、ゲンチシネート（gentisinate）、フマル酸塩、グルコン酸塩、グルクロン酸、サッカリン酸塩、ギ酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸

40

50

塩、p-トルエンスルホン酸塩、およびパモ酸塩（すなわち、1, 1'-メチレンビス-（2-ヒドロキシ-3-ナフトエ酸））の各塩を含む、ただしこれらに限定されない、薬理的に許容される陰イオンを含有する塩を形成する酸である。本組成物に含まれるSTMN2オリゴヌクレオチドはアミノ部分を含み、同部分は上記した酸に加えて、様々なアミノ酸と薬学的に許容される塩を形成し得る。本質的に酸性である本組成物に含まれる化合物は、様々な薬理的に許容されるカチオンとベース塩を形成することができる。そのような塩の例として、アルカリ金属またはアルカリ土類金属の塩、特に、カルシウム、マグネシウム、ナトリウム、およびリチウムの塩が挙げられる。本開示の薬学的に許容される塩は、例えば、配列番号1～466、配列番号893～1338、配列番号1342～1366、および配列番号1392～1664のいずれかの配列を含む、STMN2オリゴヌクレオチドの薬学的に許容される塩を含む。

10

【0136】

本開示のSTMN2オリゴヌクレオチドは、1つまたは複数のキラル中心、基、結合、および／または二重結合を含有する可能性があり、したがって立体異性体、例えば幾何異性体、エナンチオマー、またはジアステレオマー等として存在する。用語「立体異性体」は、本明細書で使用されるとき、あらゆる幾何異性体、エナンチオマー、またはジアステレオマーから構成される。これらの化合物は、ステレオジェニック原子、例えばステレオジェニックな炭素、リン、またはイオウ原子を取り囲む置換基のコンフィギュレーションに依存して、記号「R」または「S」（または「Rp」もしくは「Sp」）と命名され得る。一部の実施形態では、化合物の1つまたは複数の結合は、RpまたはSpコンフィギュレーションを有し得る（例えば、1つまたは複数のホスホロチオエート結合はRpまたはSpコンフィギュレーションを有する）。各ホスホロチオエート結合のコンフィギュレーションは、他方のホスホロチオエート結合と独立であり得る（例えば、1つのホスホロチオエート結合がRpコンフィギュレーションを有し、また第2のホスホロチオエート結合はSpコンフィギュレーションを有する）。様々な実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドは、混在しているコンフィギュレーションのホスホロチオエート結合を有することができる。例えば、STMN2オリゴヌクレオチドは、Rpコンフィギュレーションの5つのホスホロチオエート結合、続いてSpコンフィギュレーションの15のホスホロチオエート結合、続いてRpコンフィギュレーションの5つのホスホロチオエート結合を有してもよい。本発明は、これらの化合物およびその混合物について、様々な立体異性体を包含する。立体異性体には、エナンチオマーおよびジアステレオマーが含まれる。エナンチオマーまたはジアステレオマーの混合物は、命名法において「(±)」と表される場合もあるものの、当業者は、構造はキラル中心を暗黙的に示唆し得るものと認識する。

20

30

【0137】

本発明のSTMN2オリゴヌクレオチドの個々の立体異性体は、不斉中心もしくはステレオジェニックセンターを含有する市販の出発物質から合成により、またはラセミ混合物の調製と、それに続く当業者にとって周知の分割法により調製され得る。このような分割方法は、(1) エナンチオマーの混合物を不斉補助剤に連結させ、再結晶化もしくはクロマトグラフィーにより、得られたジアステレオマーの混合物を分離し、そして光学的に純粋な生成物を補助剤から遊離させること、(2) 光学的に活性な分割剤を利用する造塩、または(3) キラルクロマトグラフ用カラム上で光学エナンチオマーの混合物を直接分離することにより例示される。立体異性混合物は、周知の方法、例えばキラル相ガスクロマトグラフィー、キラル相超臨界流体クロマトグラフィー、キラル相擬似移動床式クロマトグラフィー、キラル相高性能液体クロマトグラフィー、キラル塩複合体として化合物を結晶化させること、またはキラル溶媒中で化合物を結晶化させること等により、その立体異性体コンポーネントに分割可能である。立体異性体は、周知の不斉合成法により、立体異性的に (stereomerically) 純粋な中間体、試薬、および触媒から得ることも可能である。

40

【0138】

本明細書で開示される、STMN2オリゴヌクレオチドは、薬学的に許容される溶媒、

50

例えば水、エタノール等と共に溶媒和形態ならびに非溶媒和形態で存在することができ、また本発明は、溶媒和形態および非溶媒和形態の両方を包含するように意図されている。

【0139】

本開示は、1つまたは複数の原子が、天然において豊富に見出される原子質量または質量数とは異なる原子質量または質量数を有する原子に置き換わっている点を除き、本明細書において引用されたものと同一である、同位体標識された本発明の化合物（すなわち、同位体標識されたSTMN2オリゴヌクレオチド）も包含する。本発明の化合物に組み込み可能である同位体の例として、水素、炭素、窒素、酸素、リン、フッ素、および塩素の同位体、例えば ^2H 、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 、 ^{17}O 、 ^{31}P 、 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{35}S 、 ^{18}F 、および ^{36}Cl 等がそれぞれ挙げられる。

10

【0140】

ある特定の同位体標識された本開示の化合物（例えば、 ^3H 、 ^{14}C 、または ^{35}S を用いて標識された化合物）は、化合物および／または基質の組織分布アッセイにおいて有用である。トリチウム標識（すなわち、 ^3H ）、炭素14（すなわち、 ^{14}C ）、または ^{35}S メチオニン同位体は、調製および検出可能性においてそれらが容易であることから特に好ましい。さらに、より重い同位体、例えば重水素（すなわち ^2H ）等を用いて置換すれば、代謝安定性の増大（例えば、*in vivo*での半減期の延長または投薬要求量の低減）に起因する、しかるべき治療上の長所をもたらすことができ、したがっていくつかの状況において好ましいと考えられる。

【0141】

本明細書で使用される場合、「2'-O-(2-メトキシエチル)」(2'-MOEおよび2'-O(CH₂)₂OCH₃、およびMOEも同様に)とは、フラノース環の2'位置におけるO-メトキシエチル改変を指す。2'-O-(2-メトキシエチル)は、本開示において、「2'-O-メトキシエチル」と交換可能に使用される。2'-MOEで改変されたヌクレオシド内の糖部分は、改変型糖である。

20

【0142】

本明細書で使用される場合、「2'-MOEヌクレオシド」(2'-O-(2-メトキシエチル)ヌクレオシドも同様)とは、2'-MOE改変型糖部分を含むヌクレオシドを意味する。

【0143】

本明細書で使用される場合、「2'-置換型ヌクレオシド」とは、フラノース環の2'位において、HまたはOHを除く置換基を含むヌクレオシドを意味する。ある特定の実施形態では、2'置換型ヌクレオシドは、二環式糖修飾を有するヌクレオシドを含む。

30

【0144】

本明細書で使用される場合、「5-メチルシトシン」(5-MeC)とは、メチル基を5位に連結させることで改変されたシトシンを意味する。5-メチルシトシン(5-MeC)は、改変型核酸塩基である。

【0145】

本明細書で使用される場合、「二環式糖」とは、2つの原子の架橋により改変されたフラノース環を意味する。二環式糖は改変型の糖である。

40

【0146】

本明細書で使用される場合、「二環式ヌクレオシド」(BNAも同様に)とは、架橋(糖環の2つの炭素原子を結びつけ、これにより二環式環系を形成する)を含む糖部分を有するヌクレオシドを意味する。ある特定の実施形態では、架橋は、糖環の4'-炭素と2'-炭素とを結びつける。

【0147】

本明細書で使用される場合、「キャップ構造」または「ターミナルキャップ部分」とは、アンチセンス化合物のいずれかの末端部に組み込まれた化学的改変を意味する。

【0148】

本明細書で使用される場合、「cEt」または「拘束エチル」とは、4'-炭素と2'-

50

炭素とを結びつける架橋（式： $4' - CH(CH_3) - O - 2'$ を有する）を含む糖部分を有する二環式ヌクレオシドを意味する。

【0149】

本明細書で使用される場合、「拘束エチルヌクレオシド」（c E tヌクレオシドも同様に）とは、 $4' - CH(CH_3) - O - 2'$ 架橋を含む二環式糖部分を含むヌクレオシドを意味する。一部の実施形態では、c E tは、変更することができる。一部の実施形態では、c E tは、 $S - c E t$ （ S -拘束エチル $2' - 4'$ 架橋型核酸における）であることができる。一部の他の実施形態では、c E tは、 $R - c E t$ であることができる。

【0150】

本明細書で使用される場合、「ヌクレオシド間結合」とは、オリゴヌクレオチド内の隣接したヌクレオシド間の共有結合を指す。一部の実施形態では、本明細書で使用される場合、「非天然結合」とは、「変更されたヌクレオシド間結合」を指す。

10

【0151】

本明細書で使用される場合、オリゴヌクレオチドの文脈において「連続」とは、相互に直に隣接したヌクレオシド、核酸塩基、糖部分、またはヌクレオシド間結合を指す。例えば、「連続核酸塩基」とは、配列において相互に直に隣接した核酸塩基を意味する。対照的な例として、スパーサーによって分離された2つのヌクレオシドは、隣接していない。

【0152】

本明細書で使用される場合、「ロックド核酸」または「LNA」または「LNAヌクレオシド」とは、ヌクレオシド糖単位の $4'$ 位と $2'$ 位との間で2つの炭素原子を結びつけ、これにより二環式糖を形成する架橋（例えば、メチレン、エチレン、アミノオキシ、またはオキシイミノ架橋）を有する核酸モノマーを意味する。このような二環式糖の例としては、(A) $\alpha - L - \text{メチレンオキシ} (4' - CH_2 - O - 2')$ LNA、(B) $\beta - D - \text{メチレンオキシ} (4' - CH_2 - O - 2')$ LNA、(C) エチレンオキシ ($4' - (CH_2)_2 - O - 2'$) LNA、(D) アミノオキシ ($4' - C(H) - O - N(R) - 2'$) LNA および (R) オキシアミノ ($4' - CH_2 - N(R) - O - 2'$) LNA（式中、Rは、H、 $C_1 - C_{12}$ アルキル、または保護基である）（2008年9月23日発行の米国特許第7,427,672号を参照）が挙げられるが、ただしこれらに限定されない。

20

【0153】

本明細書で使用される場合、LNA化合物として、糖の $4'$ 位と $2'$ 位との間に少なくとも1つの架橋を有する化合物であって、架橋のそれぞれが、 $- [C(R_1)(R_2)]_n -$ 、 $- C(R_1) = C(R_2) -$ 、 $- C(R_1) = N -$ 、 $- C(=NR_1) -$ 、 $- C(=O) -$ 、 $- C(=S) -$ 、 $- O -$ 、 $- Si(R_1)_2 -$ 、 $- S(=O)_x -$ 、および $- N(R_1) -$ から独立に選択される、1つまたは2～4個のリンク型の基を独立して含み；ただし、xは0、1、または2であり；nは1、2、3、または4であり； R_1 および R_2 のそれぞれは、独立して、H、保護基、ヒドロキシル、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、置換された $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_2 \sim C_{12}$ アルケニル、置換された $C_2 \sim C_{12}$ アルケニル、 $C_2 \sim C_{12}$ アルキニル、置換された $C_2 \sim C_{12}$ アルキニル、 $C_5 \sim C_{20}$ アリール、置換された $C_5 \sim C_{20}$ アリール、複素環状ラジカル、置換された複素環状ラジカル、ヘテロアリール、置換されたヘテロアリール、 $C_5 \sim C_7$ 脂環式ラジカル、置換された $C_5 \sim C_7$ 脂環式ラジカル、ハロゲン、 OJ_1 、 NJ_1J_2 、 SJ_1 、 N_3 、 $COOJ_1$ 、アシル ($C(=O) - H$)、置換されたアシル、 CN 、スルホニル ($S(=O)_2 - J_1$)、またはスルホキシル ($S(=O) - J_1$) であり；ならびに J_1 および J_2 のそれぞれは、独立して、H、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、置換された $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_2 \sim C_{12}$ アルケニル、置換された $C_2 \sim C_{12}$ アルケニル、 $C_2 \sim C_{12}$ アルキニル、置換された $C_2 \sim C_{12}$ アルキニル、 $C_5 \sim C_{20}$ アリール、置換された $C_5 \sim C_{20}$ アリール、アシル ($C(=O) - H$)、置換されたアシル、複素環状ラジカル、置換された複素環状ラジカル、 $C_1 \sim C_{12}$ アミノアルキル、置換された $C_1 \sim C_{12}$ アミノアルキル、または保護基である、化合物が挙げられるが、ただしこれらに限定されない。

30

40

【0154】

50

LNAの定義に該当する4'-2'架橋基の例として、式： $-[C(R_1)(R_2)]_n-$ 、 $-[C(R_1)(R_2)]_n-O-$ 、 $-C(R_1R_2)-N(R_1)-O-$ または $-C(R_1R_2)-O-N(R_1)-$ のうちの1つが挙げられるが、ただしこれらに限定されない。さらに、LNAの定義に該当するその他の架橋基は、4'- CH_2 -2'、4'-(CH_2)₂-2'、4'-(CH)₃-2'、4'- $CH-O-2'$ 、4'-(CH)₂-O-2'、4'- $CH-O-N(R_1)-2'$ 、および4'- $CH-N(R_1)-O-2'$ 架橋であるが、ただしR₁およびR₂のそれぞれは、独立的に、H、保護基、またはC₁~C₁₂アルキルである。

【0155】

本発明によるLNAの定義に含まれるものとして、リボシル糖環の2'-ヒドロキシル基が、糖環の4'炭素原子と接続し、これにより架橋が形成されて二環式糖部分を形成するLNAが挙げられる。架橋は、2'酸素原子と4'炭素原子とを結びつけるメチレン($-CH_2-$)基(メチレンオキシ(4'- CH_2-O-2')LNAという用語が使用される)であってよい。さらに、この位置にエチレン架橋基を有する二環式糖部分の場合、エチレンオキシ(4'- CH_2CH_2-O-2')LNAという用語が使用される。メチレンオキシ(4'- CH_2-O-2')LNAの異性体である α -L-メチレンオキシ(4'- CH_2-O-2')も、本明細書で使用されるように、LNAの定義に該当する。

【0156】

本明細書で使用される場合、「スペーサー」とは、ヌクレオシド置換基(例えば、STMN2親オリゴヌクレオチドに存在するヌクレオシドを置換する非ヌクレオシド基)を指す。スペーサーは、ヌクレオチド塩基の欠如によって、およびヌクレオシド糖部分の非糖置換基での置換によって特徴づけられる。スペーサーの非糖置換基は、アルデヒド、ケトン、アセタール、ケタール、ヘミアセタールまたはヘミケタール基を欠く。したがって、スペーサーの非糖置換基は、本明細書に記載されるヌクレオシド間リンカーを介して、スペーサーに隣接するヌクレオシドの3'および5'位置に結びつける能力を有するが、ヌクレオチド塩基と共有結合を形成する能力を有さない(すなわち、オリゴヌクレオチドにおけるヌクレオシド間結合などの別の基、コンジュゲート基、または末端基に連結する能力を有さない)。一般に、スペーサーを有するSTMN2オリゴヌクレオチドは、STMN2親オリゴヌクレオチドに関して記載され、スペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドのヌクレオシドを置換する。本開示のすべての実施形態では、スペーサーは、AONオリゴヌクレオチドの長さの順に、STMN2転写物の対応する位置で核酸塩基をヌクレオシドにハイブリダイズすることができない(すなわち、スペーサーが、AONのヌクレオチド4の後(すなわち、5'末端から5位に)位置する場合、スペーサーは、標的STMN2転写物の同じ対応する位置でヌクレオシド(A、C、G、またはU)に対して相補的でない)。

【0157】

本明細書で使用される場合、「ミスマッチ」または「非相補的基」とは、第1の核酸の基(例えば、核酸塩基)が、第2の核酸または標的核酸の対応する基(例えば、核酸塩基)と対形成する能力を有さない場合を指す。

【0158】

本明細書で使用される場合、「改変された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(例えば、ホスホジエステルヌクレオシド間結合)の置換またはそれからの任意の変化を指す。

【0159】

本明細書で使用される場合、「改変型核酸塩基」とは、アデニン、シトシン、グアニン、チミン、またはウラシル以外の任意の核酸塩基を意味する。改変型核酸塩基の例として、5-メチルシトシン、プソイドウリジン、または5-メトキシウリジンが挙げられる。「非改変型核酸塩基」とは、プリン塩基のアデニン(A)およびグアニン(G)、ならびにピリミジン塩基のチミン(T)、シトシン(C)、およびウラシル(U)を意味する。

【0160】

10

20

30

40

50

本明細書で使用される場合、「改変型ヌクレオシド」とは、改変型糖部分および／または改変型核酸塩基を独立して有するヌクレオシドを意味する。ユニバーサル塩基は、5種類の非改変型核酸塩基のいずれとも対形成することができる改変型核酸塩基である。改変型ヌクレオシドには、核酸塩基を欠く無塩基ヌクレオシドが含まれる。しかしながら、改変型ヌクレオシドは、核酸塩基を連結する能力を有さないスパーサーまたは他の基を含まない。

【0161】

本明細書で使用される場合、「結合型ヌクレオシド」は、隣接する配列において結びつけられているヌクレオシドである（すなわち、連結されているものの間に提示されるさらなるヌクレオシドはない）。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、スパーサーを介して結びつけられた結合型ヌクレオシドの異なるセグメントを有してもよい。本明細書では、スパーサー（すなわち、ヌクレオシド置換）は、ヌクレオシドとみなされず、それゆえ、オリゴヌクレオチドを結合型ヌクレオシドの2つのセグメントに分ける。オリゴヌクレオチドは、Y結合型ヌクレオシド（例えば、隣接する配列において結びつけられているYヌクレオシド）の第1のセグメント、続いてスパーサー、および次いでZ結合型ヌクレオシドの第2のセグメントを有してもよい。本明細書では、YおよびZ結合型ヌクレオシドは、5'から3'の向き、または3'から5'の向きのいずれかで記載される。様々な実施形態では、第1のセグメントは、7個以下の結合型ヌクレオシド（例えば、Y = 7以下）からなり、一方、第2のセグメントは、8個以上の結合型ヌクレオシド（例えば、Z = 8以上）を含む。

【0162】

本明細書で使用される場合、「改変型オリゴヌクレオチド」とは、少なくとも1つ（すなわち、1つまたは複数）の改変型ヌクレオシド間結合、改変型糖、および／または改変型核酸塩基を含むオリゴヌクレオチドを意味する。

【0163】

本明細書で使用される場合、「改変型糖」または「改変型糖部分」とは、改変型フラノシル糖部分またはオリゴヌクレオチドにおけるヌクレオシド間結合、コンジュゲート基、もしくは末端基などの、核酸塩基を別の基に連結することができるフラノシル部分以外を有する改変型糖部分を意味する。

【0164】

本明細書で使用される場合、「モノマー」とは、オリゴマーの単一ユニットを意味する。モノマーとして、非限定的に、ヌクレオシドおよびヌクレオチドが挙げられるが、ただし天然に存在するか、または改変型であるかを問わない。

【0165】

本明細書で使用される場合、「モチーフ」とは、アンチセンス化合物内の非改変型および改変型ヌクレオシドのパターンを意味する。

【0166】

本明細書で使用される場合、「天然の糖部分」とは、DNA（2'-H）またはRNA（2'-OH）に見出される糖部分を意味する。

【0167】

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

【0168】

本明細書で使用される場合、「非相補的核酸塩基」とは、相互に水素結合を形成しない、さもないハイブリダイゼーションに役立たない一対の核酸塩基を指す。

【0169】

本明細書で使用される場合、「核酸」とは、単量体ヌクレオチドから構成される分子を指す。核酸として、リボ核酸（RNA）、デオキシリボ核酸（DNA）、一本鎖核酸、二本鎖核酸、非コードRNA、小分子干渉リボ核酸（siRNA）、短鎖ヘアピンRNA（shRNA）、およびマイクロRNA（miRNA）が挙げられるが、ただしこれらに限

定されない。

【0170】

本明細書で使用される場合、「核酸塩基」とは、別の核酸の塩基と塩基対形成する能力を有するヘテロシクリル部分を意味する。

【0171】

本明細書で使用される場合、「核酸塩基相補性」とは、別の核酸塩基と塩基対形成することができる核酸塩基を指す。例えば、DNAでは、アデニン（A）は、チミン（T）に対して相補的である。例えば、RNAでは、アデニン（A）は、ウラシル（U）に対して相補的である。ある特定の実施形態では、相補的核酸塩基とは、その標的核酸の核酸塩基と塩基対形成することができるアンチセンス化合物の核酸塩基を指す。例えば、アンチセンス化合物のある特定位置にある核酸塩基が、標的核酸のある特定位置にある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、当該核酸塩基対において相補的と考えられる。

10

【0172】

本明細書で使用される場合、「核酸塩基配列」とは、核酸塩基の順番を意味し、糖、結合、および／または核酸塩基修飾のいずれにも無関係である。

【0173】

本明細書で使用される場合、「ヌクレオシド」とは、糖に結合した核酸塩基を指す。用語「ヌクレオシド」には、改変型糖部分および／または改変型核酸塩基を独立して有する「改変型ヌクレオシド」も含まれる。

20

【0174】

本明細書で使用される場合、「ヌクレオシド模倣体」は、糖または糖および塩基を置換するのに使用される構造を含み、オリゴマー化合物の1つまたは複数の位置における結合を必ずしも含むものではなく、例えばヌクレオシド模倣体は、モルホリノ、シクロヘキセニル、シクロヘキシル、テトラヒドロピラニル、ビシクロ、またはトリシクロ糖模倣体、例えば非フラノース糖単位を有する。ヌクレオチド模倣体には、ヌクレオシドを置換するのに使用される構造、および例えば、ペプチド核酸などのオリゴマー化合物の1つまたは複数の位置における結合、またはモルホリノ（ホスホロジアミデートまたは他の非ホスホジエステル結合によって結合したモルホリノ）が含まれる。糖代替物は、わずかにより広い用語であるヌクレオシド模倣体と重複するが、しかし糖単位（フラノース環）のみの置換を表すように意図されている。本明細書に提示されるテトラヒドロピラニル環は、フラノース糖基がテトラヒドロピラニル環系と置き換わっている糖代替物の1例を例証する。「模倣体」とは、糖、核酸塩基、および／またはヌクレオシド間結合について置換されている基を指す。一般的に、模倣体は、糖または糖-ヌクレオシド間結合の組合せの代わりに使用され、そして核酸塩基は、選択された標的に対するハイブリダイゼーションのために維持されている。

30

【0175】

本明細書で使用される場合、「ヌクレオチド」とは、ヌクレオシドの糖部分と共有結合したリン酸基を有するヌクレオシドを意味する。

【0176】

本明細書で使用される場合、「オリゴマー化合物」または「オリゴマー」とは、核酸分子の少なくともある1つの領域に対してハイブリダイズする能力を有する結合型単量体サブユニットのポリマーを意味する。

40

【0177】

本明細書で使用される場合、「オリゴヌクレオチド」とは、結合型ヌクレオシドの1つまたは複数のセグメントのポリマーを意味し、そのそれぞれは、相互に独立して改変型であっても、また非改変型であってもよい。

【0178】

本明細書で使用される場合、「ホットスポット領域」は、標的核酸のスプライシングにおいて、オリゴマー化合物媒介式の調節を受けやすい標的核酸上の、ある範囲の核酸塩基

50

である。

【0179】

本明細書で使用される場合、「ハイブリダイゼーション」とは、相補的オリゴヌクレオチドおよび／または核酸のペアリングまたはアニーリングを意味する。特定の機構に限定されるわけではないものの、ハイブリダイゼーションの最も一般的な機構は、水素結合（相補的核酸塩基間のワトソン・クリック型、フーグスティーン型または逆フーグスティーン型の水素結合であり得る）と関係する。

【0180】

本明細書で使用される場合、「活性の量を増加させる」とは、未処置試料または対照試料における転写発現または活性と比較して、より多くの転写発現、完全長成熟mRNAおよび／またはタンパク質の発現を引き起こす、より正確なスプライシングおよび／またはより高い活性を指す。

【0181】

アンチセンス治療薬

アンチセンス治療薬は、mRNAなどの、転写物を調節するのに使用することができる核酸ベースの化合物の1クラスである。様々な実施形態では、アンチセンス治療薬は、1つまたは複数のスパーサーを含み、隠れエクソンを含むSTMN2プレmRNAなどの、遺伝子から転写される転写物を調節するのに使用することができる。

【0182】

アンチセンス治療薬は、一本鎖または二本鎖のデオキシリボ核酸（DNA）ベース、リボ核酸（RNA）ベース、またはDNA/RNAの化学的類似体の化合物であり得る。一般的に、アンチセンス治療薬は、アンチセンス治療薬とプレmRNAまたはmRNAとの間の結合を促進するために、所与の遺伝子から転写されたmRNAまたはプレmRNA配列に対して相補的またはほぼ相補的な配列を含むように設計される。ある特定の実施形態では、アンチセンス治療薬は、mRNAまたはプレmRNAと結合し、これによりタンパク質翻訳を阻害し、プレmRNAから成熟mRNAへのスプライシングを変化させ（例えば、該当するタンパク質、例えばスプライシングアクチベータータンパク質等の結合を阻止することにより）、および／またはmRNAの破壊を引き起こすことによって作用する。ある特定の実施形態では、アンチセンス治療用配列は、被標的遺伝子またはmRNAのセンス配列の一部に対して相補的である。ある特定の実施形態では、本明細書に記載されるアンチセンス治療薬は、プレmRNAセンスまたはその一部分、および1つもしくは複数のスパーサーに対して相補的なオリゴヌクレオチド配列を含むオリゴヌクレオチドベースの化合物である。ある特定の実施形態では、本明細書に記載されるアンチセンス治療薬は、ヌクレオチドの化学的アナログベース化合物であってもよい。

【0183】

ある特定の実施形態では、本明細書で開示されるオリゴヌクレオチドなどのオリゴヌクレオチドは、長さが5～100個のオリゴヌクレオチド単位、例えば、長さが10～60個のオリゴヌクレオチド単位、例えば、長さが12～50個のオリゴヌクレオチド単位、長さが14～40個のオリゴヌクレオチド単位、長さが10～30個のオリゴヌクレオチド単位、例えば、長さが14～30個のオリゴヌクレオチド単位、例えば、長さが14～25個もしくは15～22個のオリゴヌクレオチド単位、または長さが18、19、20、21、22、23、24、もしくは25個のオリゴヌクレオチド単位のオリゴヌクレオチド配列であってもよい。本明細書で使用される場合、「オリゴヌクレオチド単位」とは、ヌクレオシド（例えば、糖および／もしくは核酸塩基を含むヌクレオシド）またはオリゴヌクレオチドのヌクレオシド置換基（例えば、スパーサー）のいずれかを指す。

【0184】

特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、長さが25個のオリゴヌクレオチド単位である。特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、長さが23個のオリゴヌクレオチド単位である。特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、長さが21個のオリゴヌクレオチド単位である。特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、長さが19個のオリ

ゴヌクレオチド単位である。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、長さが少なくとも18個、少なくとも19個、少なくとも20個、少なくとも21個、少なくとも22個、少なくとも23個、少なくとも24個、または少なくとも25個のオリゴヌクレオチド単位である。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、長さが少なくとも18個のオリゴヌクレオチド単位である。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、長さが少なくとも19個のオリゴヌクレオチド単位である。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、長さが少なくとも20個のオリゴヌクレオチド単位である。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、長さが少なくとも21個のオリゴヌクレオチド単位である。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、長さが少なくとも22個のオリゴヌクレオチド単位である。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、長さが少なくとも23個のオリゴヌクレオチド単位である。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、長さが少なくとも24個のオリゴヌクレオチド単位である。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、長さが少なくとも25個のオリゴヌクレオチド単位である。

10

【0185】

ある特定の実施形態では、AONは、化学的に改変されたヌクレオシド（例えば、2'-O-メチル化ヌクレオシド、または2'-O-（2-メトキシエチル）ヌクレオシド）、ならびに改変型ヌクレオシド間結合（例えば、ホスホロチオエート結合）を含み得る。ある特定の実施形態では、本明細書に記載されるAONは、STMN2 mRNA配列などの、RNA配列に対して相補的であるオリゴヌクレオチド配列を含む。ある特定の実施形態では、本明細書に記載されるAONは、化学的改変型ヌクレオシドおよび改変されたヌクレオシド間結合（例えば、ホスホロチオエート結合）を含むことができる。特定の

20

【0186】

様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、1つまたは複数のスペーサーを含む。特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、1つのスペーサーを含む。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドは、2つのスペーサーを含む。例えば、オリゴヌクレオチドは、21個の核酸塩基および2つのヌクレオシド置換基（例えば、2つのスペーサー）を有する23個のオリゴヌクレオチド単位を含む。1つのスペーサーを有するオリゴヌクレオチドおよび2つのスペーサーを有するオリゴヌクレオチドのさらなる実施形態が、本明細書に記載される。

30

【0187】

一部の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、遺伝子転写物の阻害剤（例えば、shRNA、siRNA、PNA、LNAs、2'-O-メチル（2'-Ome）アンチセンスオリゴヌクレオチド（AON）、2'-O-（2-メトキシエチル）（MOE）AON、もしくはモルホリノオリゴマー（例えば、ホスホロジアミデートモルホリノ（PMO））、またはそのような化合物を含む組成物であり得るが、ただしこれらに限定されない。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、2'-Omeを含むアンチセンスオリゴヌクレオチド（AON）（例えば、1つまたは複数の2'-Ome改変型糖を含むAON）、MOE（例えば、1つまたは複数のMOE改変型糖を含むAON）、ペプチド核酸（例えば、アミド結合または糖-リン酸塩骨格に代わる反復単位としてカルボニルメチレン結合によって連結された1つまたは複数のN-（2-アミノエチル）-グリシン単位を含むAON）、ロックド核酸（例えば、1つまたは複数のロックドリボースを含み、2'-デオキシヌクレオチドまたは2'-Omeヌクレオチドの混合物であり得るAON）、c-ET（例えば、1つまたは複数のcET糖を含むAON）、拘束メトキシエチル（cMOE）（例えば、1つまたは複数のcMOE糖を含むAON）、モルホリノオリゴマー（例えば、1つまたは複数のPMOを含む骨格を含むAON）、デオキシ-2'-フルオロヌクレオシド（例えば、1つまたは複数の2'-フルオロ-β-D-アラビノヌクレオシドを含むAON）、トリシクロ-DNA（tcDNA）（例えば、1つまたは複数のtcDNA改変型糖を含むAON）、2'-O, 4'-C-エチレン-架橋型核酸（ENA）（例えば、1つまたは複数のENA改変型糖を含むAON）、またはヘキシトール核酸（H

40

50

NA) (例えば、1つまたは複数のHNA改変型糖を含むAON)である。一部の実施形態では、AONは、ホスホロチオエート結合、ホスホジエステル結合、ホスホトリエステル結合、メチルホスホネート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホラミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、ホスホロジアミデートモルホリノ(PMO)(モルホリノ)結合、PNA結合、またはホスホロチオエート結合、ホスホジエステル結合、ホスホトリエステル結合、メチルホスホネート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホラミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、ホスホロジアミデートモルホリノ(PMO)(モルホリノ)結合、およびPNA結合の任意の組合せから独立して選択される1つまたは複数のヌクレオシド間結合を含む。一部の実施形態では、STMN2 AONは、1つまたは複数のホスホロチオエート結合、ホスホジエステル結合、またはホスホロチオエートおよびホスホジエステル結合の組合せを含む。

10

【0188】

ペプチド核酸(PNA)は、DNAまたはRNAを模倣する構造を有する人工的に合成された短いポリマーである。PNAは、ペプチド結合により結合しているN-(2-アミノエチル)-グリシンユニットの繰返しから構成される骨格を含む。ある特定の実施形態では、本明細書に記載されるPNAは、RNA配列と高い特異性で結合するアンチセンス治療薬として使用可能であり、またレベル(例えば、完全長STMN2 mRNAまたはタンパク質のレベル)および/または活性(例えば、生物学的活性、例えば、STMN2活性)を増加、修復、および/または安定化する。

【0189】

ロックド核酸(LNA)は、1つまたは複数の改変型RNAヌクレオチド(リボース部分が2'酸素および4'炭素を結びつけるエキストラ架橋により改変されている)を含むオリゴヌクレオチド配列である。LNAは、類似のオリゴヌクレオチド配列よりも高いTmを有すると考えられている。ある特定の実施形態では、本明細書に記載されるLNAは、高い特異性でRNA配列と結合するアンチセンス治療薬として使用可能である。例えば、LNAは、STMN2プレRNAに結合し、STMN2プレmRNAの成熟前のポリアデニル化を抑制し、STMN2レベル(例えば、STMN2 mRNAもしくはタンパク質レベル)および/または活性(例えば、生物活性、例えば、STMN2活性)を増加させ、回復させ、および/または安定化することができる。

20

【0190】

モルホリノオリゴマーは、ホスホロジアミデート基を通じて結合しているメチレンモルホリン環の骨格に連結したDNA塩基を含むオリゴヌクレオチド化合物である。ある特定の実施形態では、本発明のモルホリノオリゴマーは、目的の特異的プレRNA配列と結合するように設計され得る。例えば、モルホリノオリゴマーは、STMN2プレRNAに結合し、それにより、プレmRNAの成熟前のポリアデニル化を抑制し、STMN2レベル(例えば、STMN2 mRNAもしくはタンパク質レベル)および/または活性(例えば、生物活性、例えば、STMN2活性)を増加させ、回復させ、および/または安定化する。ある特定の実施形態では、本明細書に記載されるSTMN2モルホリノオリゴマーは、STMN2プレmRNA配列に結合して、STMN2プレmRNAのスプライシングおよびSTMN2遺伝子の発現を変化させるために、ならびにSTMN2のレベル(例えば、STMN2 mRNAまたはタンパク質レベル)および/または活性(例えば、生物学的活性、例えば、STMN2活性)を増加、修復、および/または安定化するためにも使用可能である。

30

40

【0191】

隠れエクソンを有するSTMN2転写物に対して相補的なSTMN2オリゴヌクレオチド

一部の実施形態では、STMN2 AONは、隠れエクソン(例えば、配列番号1339または配列番号1341)を含むSTMN2転写物の領域に対して、少なくとも90%(例えば、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%)の同一性を共有する配列に対して、85~98%相補的である配列を含む。一部の実施形態では、STMN2 AONは、隠れエクソン(例えば、配

50

列番号 1 3 3 9 または配列番号 1 3 4 1) を含む STMN2 転写物の領域に対して、少なくとも 90% (例えば、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100%) の同一性を共有する配列に対して、90~95% 相補的である配列を含む。特定の実施形態では、STMN2 AON は、隠れエクソン (例えば、配列番号 1 3 3 9 または配列番号 1 3 4 1) を含む STMN2 転写物の領域に対して、少なくとも 90% (例えば、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100%) の同一性を共有する配列に対して、85%~90% 相補的である配列を含む。特定の実施形態では、STMN2 AON は、隠れエクソン (例えば、配列番号 1 3 3 9 または配列番号 1 3 4 1) を含む STMN2 転写物の領域に対して、少なくとも 90% (例えば、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100%) の同一性を共有する配列に対して、84%~88% 相補的である配列を含む。特定の実施形態では、STMN2 AON は、隠れエクソン (例えば、配列番号 1 3 3 9 または配列番号 1 3 4 1) を含む STMN2 転写物の領域に対して、少なくとも 90% (例えば、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100%) の同一性を共有する配列に対して、89%~92% 相補的である配列を含む。特定の実施形態では、STMN2 AON は、隠れエクソン (例えば、配列番号 1 3 3 9 または配列番号 1 3 4 1) を含む STMN2 転写物の領域に対して、少なくとも 90% (例えば、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100%) の同一性を共有する配列に対して、94%~96% 相補的である配列を含む。

10

20

【0192】

様々な実施形態では、STMN2 AON は、配列番号 1~466、配列番号 893~1338、配列番号 1342~1366、または配列番号 1392~1664 のいずれか 1 つの等長部分と少なくとも 85% の同一性を共有する配列を含む。様々な実施形態では、STMN2 AON は、配列番号 1~466、配列番号 893~1338、配列番号 1342~1366、または配列番号 1392~1664 のいずれか 1 つの等長部分と少なくとも 90% の同一性を共有する配列を含む。

【0193】

様々な実施形態では、STMN2 AON によって標的とされる STMN2 転写物の領域は、隠れエクソン配列である。様々な実施形態では、STMN2 AON によって標的とされる STMN2 転写物の領域は、隠れエクソン配列の上流または下流 (例えば、100 もしくは 200 塩基上流もしくは下流) に位置する配列である。一部の実施形態では、STMN2 AON は、スパーサーを含み、多くとも 7 個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを有する。一部の実施形態では、STMN2 AON は、スパーサーを含み、多くとも 6、5、4、3、または 2 個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを有する。

30

【0194】

STMN2 AON 結合特異性は、パラメーター、例えば解離定数、融解温度 (登録商標) 等、またはその他の基準、例えばタンパク質もしくは RNA 発現レベルにおける変化等の測定、あるいは STMN2 活性または発現を測定するその他のアッセイ法を介して評価可能である。

40

【0195】

一部の実施形態では、STMN2 AON は、非二重鎖オリゴヌクレオチドを含み得る。一部の実施形態では、STMN2 AON は、第 1 のオリゴヌクレオチドが STMN2 プレ mRNA 配列に対して完全またはほぼ完全に相補的な核酸塩基の配列を含み、第 2 のオリゴヌクレオチドが第 1 のオリゴヌクレオチドの核酸塩基の配列に対して相補的である核酸塩基の配列を含む、2 つのオリゴヌクレオチドからなる二本鎖を含み得る。

【0196】

一部の実施形態では、STMN2 AON は、1 つまたは複数の種の STMN2 遺伝子

50

から生み出された、隠れエクソンを含むSTMN2プレmRNAを標的とすることができる。例えば、STMN2 AONは、哺乳動物のSTMN2遺伝子、例えばヒト（すなわち、ホモサピエンス（Homo sapiens））STMN2遺伝子の隠れエクソンを含むSTMN2プレmRNAを標的とすることができる。特定の実施形態では、STMN2 AONは、隠れエクソンを含むヒトSTMN2プレmRNAを標的とする。一部の実施形態では、STMN2 AONは、隠れエクソンを含むSTMN2遺伝子またはSTMN2プレmRNAの核酸塩基の配列またはその一部分に対して相補的である核酸塩基の配列を含む。

【0197】

本明細書に記載されるSTMN2 AONは、下記の表1にリスト化されているオリゴヌクレオチド配列を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む：

【0198】

10

20

30

40

50

【表 1 - 1】

表 1. 本開示に記載されるそれぞれの 1 つまたは複数のスパーサーにおける STMN2 AON 配列が、本発明のオリゴヌクレオチドの生成のため組み込まれる

配列番号	AON 配列* (5'→3')	領域	配列番号	Target 配列 (5'→3')
1	GGAGGGATACCTGTATATTACAAGT		447	ACTTGTAATATACAGGTATCCCTCC
2	AGGAGGGATACCTGTATATTACAAG		448	CTTGTAATATACAGGTATCCCTCCT
3	CAGGAGGGATACCTGTATATTACAA		449	TTGTAATATACAGGTATCCCTCCTG
4	CCAGGAGGGATACCTGTATATTACA		450	TGTAATATACAGGTATCCCTCCTGG
5	ACCAGGAGGGATACCTGTATATTAC		451	GTAATATACAGGTATCCCTCCTGGT
6	TACCAGGAGGGATACCTGTATATTAA		452	TAATATACAGGTATCCCTCCTGGTAA
7	TTACCAGGAGGGATACCTGTATATT		453	AATATACAGGTATCCCTCCTGGTAA
8	CTTACCAGGAGGGATACCTGTATAT		454	ATATACAGGTATCCCTCCTGGTAAAG
9	GCTTACCAGGAGGGATACCTGTATA		455	TATACAGGTATCCCTCCTGGTAAAGC
10	AGCTTACCAGGAGGGATACCTGTAT		456	ATACAGGTATCCCTCCTGGTAAAGCT
11	GAGCTTACCAGGAGGGATACCTGTAT		457	TACAGGTATCCCTCCTGGTAAAGCTC
12	AGAGCTTACCAGGAGGGATACCTGT		458	ACAGGTATCCCTCCTGGTAAAGCTCT
13	CAGAGCTTACCAGGAGGGATACCTG		459	CAGGTATCCCTCCTGGTAAAGCTCTG
14	CCAGAGCTTACCAGGAGGGATACCT		460	AGGTATCCCTCCTGGTAAAGCTCTGG
15	ACCAGAGCTTACCAGGAGGGATACCT		461	GGTATCCCTCCTGGTAAAGCTCTGGT
16	TACCAGAGCTTACCAGGAGGGATAC		462	GTATCCCTCCTGGTAAAGCTCTGGTAA
17	ATACCAGAGCTTACCAGGAGGGATAC		463	TATCCCTCCTGGTAAAGCTCTGGTAA
18	AATACCAGAGCTTACCAGGAGGGAT		464	ATCCCTCCTGGTAAAGCTCTGGTAA
19	TAATACCAGAGCTTACCAGGAGGGAT		465	TCCCTCCTGGTAAAGCTCTGGTAA
20	ATAATACCAGAGCTTACCAGGAGGG		466	CCCTCCTGGTAAAGCTCTGGTAA
21	CATAATACCAGAGCTTACCAGGAGG		467	CCTCCTGGTAAAGCTCTGGTAA
22	ACATAATACCAGAGCTTACCAGGAG		468	CTCCTGGTAAAGCTCTGGTAA
23	GACATAATACCAGAGCTTACCAGGA		469	TCCTGGTAAAGCTCTGGTAA
24	AGACATAATACCAGAGCTTACCAGG		470	CCTGGTAAAGCTCTGGTAA
25	AAGACATAATACCAGAGCTTACCAG		471	CTGGTAAAGCTCTGGTAA
26	TAAGACATAATACCAGAGCTTACCA		472	TGGTAAAGCTCTGGTAA
27	TTAAGACATAATACCAGAGCTTACC		473	GGTAAAGCTCTGGTAA
28	GTAAAGACATAATACCAGAGCTTAC		474	GTAAGCTCTGGTAA
29	TGTTAAGACATAATACCAGAGCTTA		475	TAAGCTCTGGTAA
30	ATGTTAAGACATAATACCAGAGCTT	ブラン チポイ ント 1	476	AAGCTCTGGTAA
31	AATGTTAAGACATAATACCAGAGCT	ブラン チポイ ント 1	477	AGCTCTGGTAA
32	AAATGTTAAGACATAATACCAGAGC	ブラン チポイ ント 1	478	GCTCTGGTAA

【0199】

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

33	AAAATGTTAAGACATAATACCAGAG	ブラン チポイ ント 1	479	CTCTGGTATTATGCTTAAACATTTT
34	AAAAATGTTAAGACATAATACCAGA	ブラン チポイ ント 1	480	TCTGGTATTATGCTTAAACATTTT
35	TAAAAATGTTAAGACATAATACCAG	ブラン チポイ ント 1	481	CTGGTATTATGCTTAAACATTTTAA
36	TTAAAAATGTTAAGACATAATACCA	ブラン チポイ ント 1	482	TGGTATTATGCTTAAACATTTTAA
37	TTTAAAAATGTTAAGACATAATACC	ブラン チポイ ント 1	483	GGTATTATGCTTAAACATTTTAA
38	ATTTAAAAATGTTAAGACATAATAC	ブラン チポイ ント 1	484	GTATTATGCTTAAACATTTTAAAT
39	GATTTAAAAATGTTAAGACATAATA	ブラン チポイ ント 1	485	TATTATGCTTAAACATTTTAAATC
40	AGATTTAAAAATGTTAAGACATAAT	ブラン チポイ ント 1	486	ATTATGCTTAAACATTTTAAATCT
41	TAGATTTAAAAATGTTAAGACATAA	ブラン チポイ ント 1	487	TTATGCTTAAACATTTTAAATCTA
42	ATAGATTTAAAAATGTTAAGACATA	ブラン チポイ ント 1	488	TATGCTTAAACATTTTAAATCTAT
43	CATAGATTTAAAAATGTTAAGACAT	ブラン チポイ ント 1	489	ATGCTTAAACATTTTAAATCTATG
44	CCATAGATTTAAAAATGTTAAGACA	ブラン チポイ ント 1	490	TGCTTAAACATTTTAAATCTATGG
45	ACCATAGATTTAAAAATGTTAAGAC	ブラン チポイ ント 1	491	GCTTAAACATTTTAAATCTATGGT
46	TACCATAGATTTAAAAATGTTAAGA	ブラン チポイ ント 1	492	TCTTAAACATTTTAAATCTATGGTA
47	TIACCATAGATTTAAAAATGTTAAG		493	CTTAAACATTTTAAATCTATGGTAA
48	ATTACCATAGATTTAAAAATGTTAA		494	TTAAACATTTTAAATCTATGGTAAT

【 0 2 0 0 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

49	GATTACCATAGATTAAAAATGTTA		495	TAACATTTTAAATCTATGGTAATC
50	AGATTACCATAGATTAAAAATGTT	ブラン チポイ ント 2	496	AACATTTTAAATCTATGGTAATCT
51	AAGATTACCATAGATTAAAAATGT	ブラン チポイ ント 2	497	ACATTTTAAATCTATGGTAATCTT
52	AAAGATTACCATAGATTAAAAATG	ブラン チポイ ント 2	498	CATTTTAAATCTATGGTAATCTTT
53	TAAAGATTACCATAGATTAAAAAT	ブラン チポイ ント 2	499	ATTTTAAATCTATGGTAATCTTTA
54	GTAAAGATTACCATAGATTAAAAA	ブラン チポイ ント 2	500	TTTTAAATCTATGGTAATCTTTAC
55	TGTAAAGATTACCATAGATTAAAA	ブラン チポイ ント 2	501	TTTAAATCTATGGTAATCTTTACA
56	TTGTAAAGATTACCATAGATTAAA	ブラン チポイ ント 2	502	TTAAATCTATGGTAATCTTTACAA
57	TTTGTAAAGATTACCATAGATTAA	ブラン チポイ ント 2	503	TTAAATCTATGGTAATCTTTACAAA
58	TTTTGTAAAGATTACCATAGATTTA	ブラン チポイ ント 2	504	TAAATCTATGGTAATCTTTACAAAA
59	ATTTTGTAAAGATTACCATAGATT	ブラン チポイ ント 2	505	AAATCTATGGTAATCTTTACAAAAT
60	TATTTGTAAAGATTACCATAGATT	ブラン チポイ ント 2	506	AATCTATGGTAATCTTTACAAAATA
61	ATATTTTGTAAAGATTACCATAGAT	ブラン チポイ ント 2	507	ATCTATGGTAATCTTTACAAAATAT
62	AATATTTTGTAAAGATTACCATAGA	ブラン チポイ ント 2	508	TCTATGGTAATCTTTACAAAATATT
63	AAATATTTTGTAAAGATTACCATAG	ブラン チポイ ント 2	509	CTATGGTAATCTTTACAAAATATTT

10

20

30

40

【 0 2 0 1 】

50

【表 1 - 4】

64	AAAATATTTTGTAAAGATTACCATA	ブラン チポイ ント 2	510	TATGGTAATCTTTACAAAATATTTT
65	TAAAAATATTTTGTAAAGATTACCAT	ブラン チポイ ント 2	511	ATGGTAATCTTTACAAAATATTTTA
66	GTAAAATATTTTGTAAAGATTACCA	ブラン チポイ ント 2	512	TGGTAATCTTTACAAAATATTTTAC
67	AGTAAAAATTTTGTAAAGATTACC		513	GGTAATCTTTACAAAATATTTTACT
68	AAGTAAAAATTTTGTAAAGATTAC		514	GTAATCTTTACAAAATATTTTACTT
69	GAAGTAAAAATTTTGTAAAGATT		515	TAATCTTTACAAAATATTTTACTTC
70	GGAAGTAAAAATTTTGTAAAGATT		516	AATCTTTACAAAATATTTTACTTCC
71	CGGAAGTAAAAATTTTGTAAAGAT		517	ATCTTTACAAAATATTTTACTTCCG
72	TCGGAAGTAAAAATTTTGTAAAGA		518	TCTTTACAAAATATTTTACTTCCGA
73	TTCGGAAGTAAAAATTTTGTAAAG		519	CTTTACAAAATATTTTACTTCCGAA
74	GTTTCGGAAGTAAAAATTTTGTAAA		520	TTTACAAAATATTTTACTTCCGAAC
75	AGTTCGGAAGTAAAAATTTTGTAA		521	TTACAAAATATTTTACTTCCGAAC
76	GAGTTCGGAAGTAAAAATTTTGT		522	TACAAAATATTTTACTTCCGAAC
77	TGAGTTCGGAAGTAAAAATTTTGT		523	ACAAAATATTTTACTTCCGAAC
78	ATGAGTTCGGAAGTAAAAATTTTG		524	CAAAAATATTTTACTTCCGAAC
79	TATGAGTTCGGAAGTAAAAATTTT		525	AAAATATTTTACTTCCGAAC
80	ATATGAGTTCGGAAGTAAAAATTT		526	AAATATTTTACTTCCGAAC
81	TATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		527	AATATTTTACTTCCGAAC
82	GTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		528	ATATTTTACTTCCGAAC
83	GGTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		529	TATTTTACTTCCGAAC
84	AGGTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		530	ATTTTACTTCCGAAC
85	CAGGTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		531	TTTACTTCCGAAC
86	CCAGGTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		532	TTTACTTCCGAAC
87	CCCAGGTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		533	TTACTTCCGAAC
88	CCCCAGGTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		534	TACTTCCGAAC
89	TCCCCAGGTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		535	ACTTCCGAAC
90	ATCCCCAGGTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		536	CTTCCGAAC
91	AATCCCCAGGTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		537	TTCCGAAC
92	AAATCCCCAGGTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		538	TCCGAAC
93	AAAATCCCCAGGTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		539	CCGAAC
94	TAAAATCCCCAGGTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		540	CGAAC
95	ATAAAATCCCCAGGTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		541	GAAC
96	AATAAAATCCCCAGGTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		542	AACT
97	TAATAAAATCCCCAGGTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		543	ACT
98	GTAATAAAATCCCCAGGTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		544	CTCAT
99	AGTAATAAAATCCCCAGGTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		545	TCAT
100	GAGTAATAAAATCCCCAGGTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		546	CAT
101	AGAGTAATAAAATCCCCAGGTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		547	AT
102	CAGAGTAATAAAATCCCCAGGTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		548	TAT
103	CCAGAGTAATAAAATCCCCAGGTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		549	AT
104	CCCAGAGTAATAAAATCCCCAGGTATATGAGTTCGGAAGTAAAAAT		550	TAC

【 0 2 0 2 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 5】

105	TCCCAGAGTAATAAAATCCCCAGGT		551	ACCTGGGGATTTTATTACTCTGGGA
106	TCCCAGAGTAATAAAATCCCCAGG		552	CCTGGGGATTTTATTACTCTGGGAA
107	ATCCCAGAGTAATAAAATCCCCAG		553	CTGGGGATTTTATTACTCTGGGAAT
108	AATCCCAGAGTAATAAAATCCCCA		554	TGGGGATTTTATTACTCTGGGAATT
109	TAATCCCAGAGTAATAAAATCCCC		555	GGGGATTTTATTACTCTGGGAATTA
110	ATAATCCCAGAGTAATAAAATCCC		556	GGGATTTTATTACTCTGGGAATTAT
111	CATAATCCCAGAGTAATAAAATCC		557	GGATTTTATTACTCTGGGAATTATG
112	ACATAATCCCAGAGTAATAAAATC		558	GATTTTATTACTCTGGGAATTATGT
113	CACATAATCCCAGAGTAATAAAAT		559	ATTTTATTACTCTGGGAATTATGTG
114	ACACATAATCCCAGAGTAATAAAA		560	TTTATTACTCTGGGAATTATGTGT
115	AACACATAATCCCAGAGTAATAAA		561	TTTATTACTCTGGGAATTATGTGTT
116	GAACACATAATCCCAGAGTAATAA		562	TTATTACTCTGGGAATTATGTGTTCT
117	AGAACACATAATCCCAGAGTAATA		563	TATTACTCTGGGAATTATGTGTTCT
118	CAGAACACATAATCCCAGAGTAAT		564	ATTACTCTGGGAATTATGTGTTCTG
119	GCAGAACACATAATCCCAGAGTAA		565	TTACTCTGGGAATTATGTGTTCTGC
120	GGCAGAACACATAATCCCAGAGTA		566	TACTCTGGGAATTATGTGTTCTGCC
121	GGGCAGAACACATAATCCCAGAGT		567	ACTCTGGGAATTATGTGTTCTGCCC
122	GGGGCAGAACACATAATCCCAGAG		568	CTCTGGGAATTATGTGTTCTGCCCC
123	TGGGGCAGAACACATAATCCCAGA		569	TCTGGGAATTATGTGTTCTGCCCCA
124	ATGGGGCAGAACACATAATCCCAG		570	CTGGGAATTATGTGTTCTGCCCCAT
125	GATGGGGCAGAACACATAATCCCA		571	TGGGAATTATGTGTTCTGCCCCATC
126	TGATGGGGCAGAACACATAATCCC		572	GGGAATTATGTGTTCTGCCCCATCA
127	GTGATGGGGCAGAACACATAATCC		573	GGAATTATGTGTTCTGCCCCATCAC
128	AGTGATGGGGCAGAACACATAATTC		574	GAATTATGTGTTCTGCCCCATCACT
129	GAGTGATGGGGCAGAACACATAATT	ブラン チポイ ント 3	575	AATTATGTGTTCTGCCCCATCACTC
130	AGAGTGATGGGGCAGAACACATAAT	ブラン チポイ ント 3	576	ATTATGTGTTCTGCCCCATCACTCT
131	GAGAGTGATGGGGCAGAACACATAA	ブラン チポイ ント 3	577	TTATGTGTTCTGCCCCATCACTCTC
132	AGAGAGTGATGGGGCAGAACACATA	ブラン チポイ ント 3	578	TATGTGTTCTGCCCCATCACTCTCT
133	GAGAGAGTGATGGGGCAGAACACAT	ブラン チポイ ント 3	579	ATGTGTTCTGCCCCATCACTCTCTC
134	AGAGAGAGTGATGGGGCAGAACACA	ブラン チポイ ント 3	580	TGTGTTCTGCCCCATCACTCTCTCT
135	AAGAGAGAGTGATGGGGCAGAACAC	ブラン チポイ ント 3	581	GTGTTCTGCCCCATCACTCTCTCTT

10

20

30

40

【 0 2 0 3 】

50

【表 1 - 6】

136	TAAGAGAGAGTGATGGGGCAGAACA	ブラン チポイ ント 3	582	TGTTCTGCCCCATCACTCTCTCTTA
137	TTAAGAGAGAGTGATGGGGCAGAAC	ブラン チポイ ント 3	583	GTTCTGCCCCATCACTCTCTCTTAA
138	ATTAAGAGAGAGTGATGGGGCAGAA	ブラン チポイ ント 3	584	TTCTGCCCCATCACTCTCTCTTAAAT
139	AATTAAGAGAGAGTGATGGGGCAGA	ブラン チポイ ント 3	585	TCTGCCCCATCACTCTCTCTTAAATT
140	CAATTAAGAGAGAGTGATGGGGCAG	ブラン チポイ ント 3	586	CTGCCCCATCACTCTCTCTTAAATTG
141	CCAATTAAGAGAGAGTGATGGGGCA	ブラン チポイ ント 3	587	TGCCCCATCACTCTCTCTTAAATTGG
142	TCCAATTAAGAGAGAGTGATGGGGC	ブラン チポイ ント 3	588	GCCCCATCACTCTCTCTTAAATTGGA
143	ATCCAATTAAGAGAGAGTGATGGGG	ブラン チポイ ント 3	589	CCCCATCACTCTCTCTTAAATTGGAT
144	AATCCAATTAAGAGAGAGTGATGGG	ブラン チポイ ント 3	590	CCCATCACTCTCTCTTAAATTGGATT
145	AAATCCAATTAAGAGAGAGTGATGG	ブラン チポイ ント 3	591	CCATCACTCTCTCTTAAATTGGATT
146	AAAATCCAATTAAGAGAGAGTGATG		592	CATCACTCTCTCTTAAATTGGATTTT
147	AAAAATCCAATTAAGAGAGAGTGAT		593	ATCACTCTCTCTTAAATTGGATTTTT
148	TAAAAATCCAATTAAGAGAGAGTG		594	TCACTCTCTCTTAAATTGGATTTTTA
149	TTAAAAATCCAATTAAGAGAGAGTG		595	CACTCTCTCTTAAATTGGATTTTTAA
150	TTTAAAAATCCAATTAAGAGAGAGT		596	ACTCTCTCTTAAATTGGATTTTTAAA
151	TTTTAAAAATCCAATTAAGAGAGAG		597	CTCTCTCTTAAATTGGATTTTTAAAA
152	ATTTTAAAAATCCAATTAAGAGAGA		598	TCTCTCTTAAATTGGATTTTTAAAAAT
153	AATTTTAAAAATCCAATTAAGAGAG		599	CTCTCTTAAATTGGATTTTTAAAAATT
154	TAATTTTAAAAATCCAATTAAGAGA		600	TCTCTTAAATTGGATTTTTAAAAATTA
155	ATAATTTTAAAAATCCAATTAAGAG		601	CTCTTAAATTGGATTTTTAAAAATTAT
156	TATAATTTTAAAAATCCAATTAAGA		602	TCTTAAATTGGATTTTTAAAAATTATA
157	ATATAATTTTAAAAATCCAATTAAG		603	CTTAAATTGGATTTTTAAAAATTATAT
158	AATATAATTTTAAAAATCCAATTAA		604	TTAATTGGATTTTTAAAAATTATATT
159	GAATATAATTTTAAAAATCCAATTA		605	TAATTGGATTTTTAAAAATTATATTC
160	TGAATATAATTTTAAAAATCCAATT		606	AATTGGATTTTTAAAAATTATATICA

10

20

30

40

【 0 2 0 4 】

50

【表 1 - 7】

161	ATGAATATAATTTTAAAAATCCAAT		607	ATTGGATTTTAAAAATTATATTCAT
162	TATGAATATAATTTTAAAAATCCAA		608	TGGATTTTAAAAATTATATTCATA
163	ATATGAATATAATTTTAAAAATCCA		609	TGGATTTTAAAAATTATATTCATAT
164	AATATGAATATAATTTTAAAAATCC		610	GGATTTTAAAAATTATATTCATATT
165	CAATATGAATATAATTTTAAAAATC		611	GATTTTAAAAATTATATTCATATTG
166	GCAATATGAATATAATTTTAAAAAT		612	ATTTTAAAAATTATATTCATATTGC
167	TGCAATATGAATATAATTTTAAAAA		613	TTTTAAAAATTATATTCATATTGCA
168	CTGCAATATGAATATAATTTTAAAA		614	TTTTAAAAATTATATTCATATTGCAG
169	CCTGCAATATGAATATAATTTTAAA		615	TTTAAAAATTATATTCATATTGCAGG
170	TCCTGCAATATGAATATAATTTTAA		616	TTAAAAATTATATTCATATTGCAGGA
171	GTCCTGCAATATGAATATAATTTTA	アクセ プター 部位	617	TAAAAATTATATTCATATTGCAGGAC
172	AGTCCTGCAATATGAATATAATTTT	アクセ プター 部位	618	AAAAATTATATTCATATTGCAGGACT
173	GAGTCCTGCAATATGAATATAATTT	アクセ プター 部位	619	AAATTATATTCATATTGCAGGACTC
174	CGAGTCCTGCAATATGAATATAATT	アクセ プター 部位	620	AATTATATTCATATTGCAGGACTCG
175	CCGAGTCCTGCAATATGAATATAAT	アクセ プター 部位	621	ATTATATTCATATTGCAGGACTCGG
176	GCCGAGTCCTGCAATATGAATATAA	アクセ プター 部位	622	TTATATTCATATTGCAGGACTCGGC
177	TGCCGAGTCCTGCAATATGAATATA	アクセ プター 部位	623	TATATTCATATTGCAGGACTCGGCA
178	CTGCCGAGTCCTGCAATATGAATAT	アクセ プター 部位	624	ATATTCATATTGCAGGACTCGGCAG
179	TCTGCCGAGTCCTGCAATATGAATA	アクセ プター 部位	625	TATTCATATTGCAGGACTCGGCAGA
180	TTCTGCCGAGTCCTGCAATATGAAT	アクセ プター 部位	626	ATTCATATTGCAGGACTCGGCAGAA
181	CTTCTGCCGAGTCCTGCAATATGAA	アクセ プター 部位	627	TTCATATTGCAGGACTCGGCAGAAG

10

20

30

40

【 0 2 0 5 】

【表 1 - 8】

182	TCTTCTGCCGAGTCCTGCAATATGA	アクセ プター 部位	628	TCATATTGCAGGACTCGGCAGAAGA
183	GTCTTCTGCCGAGTCCTGCAATATG	アクセ プター 部位	629	CATATTGCAGGACTCGGCAGAAGAC
184	GGTCTTCTGCCGAGTCCTGCAATAT	アクセ プター 部位	630	ATATTGCAGGACTCGGCAGAAGACC
185	AGGTCTTCTGCCGAGTCCTGCAATA	アクセ プター 部位	631	TATTGCAGGACTCGGCAGAAGACCT
186	AAGGTCTTCTGCCGAGTCCTGCAAT	アクセ プター 部位	632	ATTGCAGGACTCGGCAGAAGACCTT
187	GAAGGTCTTCTGCCGAGTCCTGCAA	アクセ プター 部位	633	TTGCAGGACTCGGCAGAAGACCTTC
188	CGAAGGTCTTCTGCCGAGTCCTGCA	アクセ プター 部位	634	TGCAGGACTCGGCAGAAGACCTTCG
189	TCGAAGGTCTTCTGCCGAGTCCTGC	アクセ プター 部位	635	GCAGGACTCGGCAGAAGACCTTCGA
190	CTCGAAGGTCTTCTGCCGAGTCCTG	アクセ プター 部位	636	CAGGACTCGGCAGAAGACCTTCGAG
191	TCTCGAAGGTCTTCTGCCGAGTCCT	ESE 結 合	637	AGGACTCGGCAGAAGACCTTCGAGA
192	CTCTCGAAGGTCTTCTGCCGAGTCC	ESE 結 合	638	GGACTCGGCAGAAGACCTTCGAGAG
193	TCTCTCGAAGGTCTTCTGCCGAGTC	ESE 結 合	639	GACTCGGCAGAAGACCTTCGAGAGA
194	TTCTCTCGAAGGTCTTCTGCCGAGT	ESE 結 合	640	ACTCGGCAGAAGACCTTCGAGAGAA
195	TTTCTCTCGAAGGTCTTCTGCCGAG	ESE 結 合	641	CTCGGCAGAAGACCTTCGAGAGAAA
196	CTTCTCTCGAAGGTCTTCTGCCGA	ESE 結 合	642	TCGGCAGAAGACCTTCGAGAGAAAAG
197	CCTTCTCTCGAAGGTCTTCTGCCG	ESE 結 合	643	CGGCAGAAGACCTTCGAGAGAAAAGG
198	ACCTTCTCTCGAAGGTCTTCTGCC	ESE 結 合	644	GGCAGAAGACCTTCGAGAGAAAAGGT

【 0 2 0 6 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 9】

199	TACCTTTCTCTCGAAGGTCTTCTGC	ESE 結合	645	GCAGAAGACCTTCGAGAGAAAGGTA
200	CTACCTTTCTCTCGAAGGTCTTCTG	ESE 結合	646	CAGAAGACCTTCGAGAGAAAGGTAG
201	TCTACCTTTCTCTCGAAGGTCTTCT	ESE 結合	647	AGAAGACCTTCGAGAGAAAGGTAGA
202	TTCTACCTTTCTCTCGAAGGTCTTC	ESE 結合	648	GAAGACCTTCGAGAGAAAGGTAGAA
203	TTTCTACCTTTCTCTCGAAGGTCTT	ESE 結合	649	AAGACCTTCGAGAGAAAGGTAGAAA
204	TTTTCTACCTTTCTCTCGAAGGTCT	ESE 結合	650	AGACCTTCGAGAGAAAGGTAGAAAA
205	ATTTTCTACCTTTCTCTCGAAGGTC	ESE 結合	651	GACCTTCGAGAGAAAGGTAGAAAAT
206	TATTTCTACCTTTCTCTCGAAGGT	ESE 結合	652	ACCTTCGAGAGAAAGGTAGAAAATA
207	TTATTTCTACCTTTCTCTCGAAGG	ESE 結合	653	CCTTCGAGAGAAAGGTAGAAAATAA
208	CTTATTTCTACCTTTCTCTCGAAG	ESE 結合	654	CTTCGAGAGAAAGGTAGAAAATAAG
209	TCTTATTTCTACCTTTCTCTCGAA	ESE 結合	655	TTCGAGAGAAAGGTAGAAAATAAGA
210	TTCTTATTTCTACCTTTCTCTCGA	ESE 結合	656	TCGAGAGAAAGGTAGAAAATAAGAA
211	ATTCTTATTTCTACCTTTCTCTCG	ESE 結合	657	CGAGAGAAAGGTAGAAAATAAGAAT
212	AATTCTTATTTCTACCTTTCTCTC	ESE 結合	658	GAGAGAAAGGTAGAAAATAAGAATT
213	AAATTCTTATTTCTACCTTTCTCT	ESE 結合	659	AGAGAAAGGTAGAAAATAAGAATTT
214	CAAATTCTTATTTCTACCTTTCTC	ESE 結合	660	GAGAAAGGTAGAAAATAAGAATTTG
215	CCAAATTCTTATTTCTACCTTTCT	ESE 結合	661	AGAAAGGTAGAAAATAAGAATTTGG
216	GCCAAATTCTTATTTCTACCTTTC	ESE 結合	662	GAAAGGTAGAAAATAAGAATTTGGC
217	AGCCAAATTCTTATTTCTACCTTT	ESE 結合	663	AAAGGTAGAAAATAAGAATTTGGCT
218	GAGCCAAATTCTTATTTCTACCTT	ESE 結合	664	AAGGTAGAAAATAAGAATTTGGCTC
219	AGAGCCAAATTCTTATTTCTACCT	ESE 結合	665	AGGTAGAAAATAAGAATTTGGCTCT

10

20

30

40

【 0 2 0 7 】

50

【表 1 - 1 0】

220	GAGAGCCAAATTCTTATTTTCTACC	ESE 結 合	666	GGTAGAAAATAAGAATTTGGCTCTC
221	AGAGAGCCAAATTCTTATTTTCTAC	ESE 結 合	667	GTAGAAAATAAGAATTTGGCTCTCT
222	CAGAGAGCCAAATTCTTATTTTCTA		668	TAGAAAATAAGAATTTGGCTCTCTG
223	ACAGAGAGCCAAATTCTTATTTTCT		669	AGAAAATAAGAATTTGGCTCTCTGT
224	CACAGAGAGCCAAATTCTTATTTTC		670	GAAAATAAGAATTTGGCTCTCTGTG
225	ACACAGAGAGCCAAATTCTTATTTT		671	AAAATAAGAATTTGGCTCTCTGTGT
226	CACACAGAGAGCCAAATTCTTATTT	オーバ ーラッ プ TDP- 43 部位 1	672	AAATAAGAATTTGGCTCTCTGTGTG
227	TCACACAGAGAGCCAAATTCTTATT	オーバ ーラッ プ TDP- 43 部位 1	673	AATAAGAATTTGGCTCTCTGTGTGA
228	CTCACACAGAGAGCCAAATTCTTAT	オーバ ーラッ プ TDP- 43 部位 1	674	ATAAGAATTTGGCTCTCTGTGTGAG
229	GCTCACACAGAGAGCCAAATTCTTA	オーバ ーラッ プ TDP- 43 部位 1	675	TAAGAATTTGGCTCTCTGTGTGAGC
230	TGCTCACACAGAGAGCCAAATTCTT	オーバ ーラッ プ TDP- 43 部位 1	676	AAGAATTTGGCTCTCTGTGTGAGCA
231	ATGCTCACACAGAGAGCCAAATTCT	オーバ ーラッ プ TDP- 43 部位 1	677	AGAATTTGGCTCTCTGTGTGAGCAT
232	CATGCTCACACAGAGAGCCAAATTC	オーバ ーラッ プ TDP- 43 部位 1	678	GAATTTGGCTCTCTGTGTGAGCATG

10

20

30

40

【 0 2 0 8 】

50

【表 1 - 1 1】

233	ACATGCTCACACAGAGAGCCAAATT	オーバーラップ TDP-43 部位 1	679	AATTTGGCTCTCTGTGTGAGCATGT
234	CACATGCTCACACAGAGAGCCAAAT	オーバーラップ TDP-43 部位 1	680	ATTGGCTCTCTGTGTGAGCATGTG
235	ACACATGCTCACACAGAGAGCCAAA	オーバーラップ TDP-43 部位 1	681	TTTGGCTCTCTGTGTGAGCATGTGT
236	CACACATGCTCACACAGAGAGCCAA	オーバーラップ TDP-43 部位 1 および 2	682	TGGCTCTCTGTGTGAGCATGTGTG
237	GCACACATGCTCACACAGAGAGCCA	オーバーラップ TDP-43 部位 1 および 2	683	TGGCTCTCTGTGTGAGCATGTGTGC
238	CGCACACATGCTCACACAGAGAGCC	オーバーラップ TDP-43 部位 1 および 2	684	GGCTCTCTGTGTGAGCATGTGTGCG
239	ACGCACACATGCTCACACAGAGAGC	オーバーラップ TDP-43 部位 1 および 2	685	GCTCTCTGTGTGAGCATGTGTGCGT

10

20

30

40

【 0 2 0 9 】

50

【表 1 - 1 2】

240	CACGCACACATGCTCACACAGAGAG	オーバ ーラッ プ TDP- 43 部位 1 および 2	686	CTCTCTGTGTGAGCATGTGTGCGTGTG
241	ACACGCACACATGCTCACACAGAGA	オーバ ーラッ プ TDP- 43 部位 1 および 2	687	TCTCTGTGTGAGCATGTGTGCGTGTG
242	CACACGCACACATGCTCACACAGAG	オーバ ーラッ プ TDP- 43 部位 1 および 2	688	CTCTGTGTGAGCATGTGTGCGTGTG
243	ACACACGCACACATGCTCACACAGA	オーバ ーラッ プ TDP- 43 部位 1 および 2	689	TCTGTGTGAGCATGTGTGCGTGTGTG
244	CACACACGCACACATGCTCACACAG	オーバ ーラッ プ TDP- 43 部位 1 および 2 および 3	690	CTGTGTGAGCATGTGTGCGTGTGTG
245	GCACACACGCACACATGCTCACACA	オーバ ーラッ プ TDP- 43 部位 1 および 2 および 3	691	TGTGTGAGCATGTGTGCGTGTGTGC
246	CGCACACACGCACACATGCTCACAC	オーバ ーラッ プ TDP- 43 部位 2 および 3	692	GTGTGAGCATGTGTGCGTGTGTGCG

10

20

30

40

【 0 2 1 0 】

50

【表 1 - 1 3】

247	TCGCACACACGCACACATGCTCACA	オーバ ーラッ プ TDP- 43 部位 2 および 3	693	TGTGAGCATGTGTGCGTGTGTGCGA
248	CTCGCACACACGCACACATGCTCAC	オーバ ーラッ プ TDP- 43 部位 2 および 3	694	GTGAGCATGTGTGCGTGTGTGCGAG
249	TCTCGCACACACGCACACATGCTCA	オーバ ーラッ プ TDP- 43 部位 2 および 3	695	TGAGCATGTGTGCGTGTGTGCGAGA
250	CTCTCGCACACACGCACACATGCTC	オーバ ーラッ プ TDP- 43 部位 2 および 3	696	GAGCATGTGTGCGTGTGTGCGAGAG
251	TCTCTCGCACACACGCACACATGCT	オーバ ーラッ プ TDP- 43 部位 2 および 3	697	AGCATGTGTGCGTGTGTGCGAGAGA
252	CTCTCTCGCACACACGCACACATGC	オーバ ーラッ プ TDP- 43 部位 2 および 3	698	GCATGTGTGCGTGTGTGCGAGAGAG
253	TCTCTCTCGCACACACGCACACATG	オーバ ーラッ プ TDP- 43 部位 2 および 3	699	CATGTGTGCGTGTGTGCGAGAGAGA

10

20

30

40

【 0 2 1 1 】

50

【表 1 - 1 4】

254	CTCTCTCTCGCACACACGCACACAT	オーバーラップ TDP-43 部位 2 および 3	700	ATGTGTGCGTGTGTGCGAGAGAGAG
255	TCTCTCTCTCGCACACACGCACACA	オーバーラップ TDP-43 部位 2 および 3	701	TGTGTGCGTGTGTGCGAGAGAGAGAGA
256	CTCTCTCTCTCGCACACACGCACAC	オーバーラップ TDP-43 部位 3	702	GTGTGCGTGTGTGCGAGAGAGAGAGAG
257	TCTCTCTCTCTCGCACACACGCACA	オーバーラップ TDP-43 部位 3	703	TGTGCGTGTGTGCGAGAGAGAGAGAGA
258	GTCTCTCTCTCTCGCACACACGCAC	オーバーラップ TDP-43 部位 3	704	GTGCGTGTGTGCGAGAGAGAGAGAGAC
259	TGTCTCTCTCTCTCGCACACACGCA	オーバーラップ TDP-43 部位 3	705	TGCGTGTGTGCGAGAGAGAGAGAGACA
260	CTGTCTCTCTCTCTCGCACACACGC	オーバーラップ TDP-43 部位 3	706	GCGTGTGTGCGAGAGAGAGAGAGACAG
261	TCTGTCTCTCTCTCTCGCACACACG	オーバーラップ TDP-43 部位 3	707	CGTGTGTGCGAGAGAGAGAGAGACAGA

10

20

30

40

【 0 2 1 2 】

50

【表 1 - 1 5】

262	GTCTGTCTCTCTCTCTCGCACACAC	オーバーラップ TDP-43 部位 3	708	GTGTGTGCGAGAGAGAGAGACAGAC
263	TGCTGTCTCTCTCTCTCGCACACA	オーバーラップ TDP-43 部位 3	709	TGTGTGCGAGAGAGAGAGACAGACA
264	CTGTCTGTCTCTCTCTCTCGCACAC		710	GTGTGCGAGAGAGAGAGACAGACAG
265	GCTGTCTGTCTCTCTCTCTCGCAC		711	TGTGCGAGAGAGAGAGACAGACAGC
266	GGCTGTCTGTCTCTCTCTCTCGCAC		712	GTGCGAGAGAGAGAGACAGACAGCC
267	AGGCTGTCTGTCTCTCTCTCTCGCA		713	TGCGAGAGAGAGAGACAGACAGCCT
268	CAGGCTGTCTGTCTCTCTCTCTCGC		714	GCGAGAGAGAGAGACAGACAGCCTG
269	GCAGGCTGTCTGTCTCTCTCTCTCG		715	CGAGAGAGAGAGACAGACAGCCTGC
270	GGCAGGCTGTCTGTCTCTCTCTCTC		716	GAGAGAGAGAGACAGACAGCCTGCC
271	AGGCAGGCTGTCTGTCTCTCTCTCT		717	AGAGAGAGAGACAGACAGCCTGCCT
272	TAGGCAGGCTGTCTGTCTCTCTCTC		718	GAGAGAGAGACAGACAGCCTGCCTA
273	TTAGGCAGGCTGTCTGTCTCTCTCT		719	AGAGAGAGACAGACAGCCTGCCTAA
274	CTTAGGCAGGCTGTCTGTCTCTCTC		720	GAGAGAGACAGACAGCCTGCCTAAG
275	TCTTAGGCAGGCTGTCTGTCTCTCT		721	AGAGAGACAGACAGCCTGCCTAAGA
276	TTCTTAGGCAGGCTGTCTGTCTCTC		722	GAGAGACAGACAGCCTGCCTAAGAA
277	CTTCTTAGGCAGGCTGTCTGTCTCT		723	AGAGACAGACAGCCTGCCTAAGAAG
278	TCTTCTTAGGCAGGCTGTCTGTCTC		724	GAGACAGACAGCCTGCCTAAGAAGA
279	TTCTTCTTAGGCAGGCTGTCTGTCT		725	AGACAGACAGCCTGCCTAAGAAGAA
280	TTTCTTCTTAGGCAGGCTGTCTGTCT		726	GACAGACAGCCTGCCTAAGAAGAAA
281	ATTTCTTCTTAGGCAGGCTGTCTGT		727	ACAGACAGCCTGCCTAAGAAGAAAT
282	CATTCTTCTTAGGCAGGCTGTCTGT		728	CAGACAGCCTGCCTAAGAAGAAATG
283	TCATTCTTCTTAGGCAGGCTGTCT		729	AGACAGCCTGCCTAAGAAGAAATGA
284	TTCATTCTTCTTAGGCAGGCTGTCT		730	GACAGCCTGCCTAAGAAGAAATGAA
285	ATTCATTCTTCTTAGGCAGGCTGT		731	ACAGCCTGCCTAAGAAGAAATGAAT
286	CATTCATTCTTCTTAGGCAGGCTGT		732	CAGCCTGCCTAAGAAGAAATGAATG
287	ACATTCATTCTTCTTAGGCAGGCT		733	AGCCTGCCTAAGAAGAAATGAATGT
288	CACATTCATTCTTCTTAGGCAGGC		734	GCCTGCCTAAGAAGAAATGAATGTG
289	TCACATTCATTCTTCTTAGGCAGG		735	CCTGCCTAAGAAGAAATGAATGTGA
290	TTCACATTCATTCTTCTTAGGCAG		736	CTGCCTAAGAAGAAATGAATGTGAA
291	ATTCACATTCATTCTTCTTAGGCA		737	TGCCTAAGAAGAAATGAATGTGAAT
292	CATTCACATTCATTCTTCTTAGGC		738	GCCTAAGAAGAAATGAATGTGAATG
293	GCATTCACATTCATTCTTCTTAGG		739	CCTAAGAAGAAATGAATGTGAATGC
294	CGCATTCACATTCATTCTTCTTAG		740	CTAAGAAGAAATGAATGTGAATGCG
295	CCGCATTCACATTCATTCTTCTTA		741	TAAGAAGAAATGAATGTGAATGCGG
296	GCCGCATTCACATTCATTCTTCTT		742	AAGAAGAAATGAATGTGAATGCGGC
297	AGCCGCATTCACATTCATTCTTCT		743	AGAAGAAATGAATGTGAATGCGGCT
298	AAGCCGCATTCACATTCATTCTTCT		744	GAAGAAATGAATGTGAATGCGGCTT
299	CAAGCCGCATTCACATTCATTCTTCT		745	AAGAAATGAATGTGAATGCGGCTTG
300	ACAAGCCGCATTCACATTCATTCTTCT		746	AGAAATGAATGTGAATGCGGCTTGT

10

20

30

40

【 0 2 1 3 】

50

【表 1 - 1 6】

301	CACAAGCCGCATTACATTCATTTC	747	GAAATGAATGTGAATGCGGCTTGTG
302	CCACAAGCCGCATTACATTCATTTC	748	AAATGAATGTGAATGCGGCTTGTGG
303	GCCACAAGCCGCATTACATTCATT	749	AATGAATGTGAATGCGGCTTGTGGC
304	TGCCACAAGCCGCATTACATTCAT	750	ATGAATGTGAATGCGGCTTGTGGCA
305	GTGCCACAAGCCGCATTACATTCAC	751	TGAATGTGAATGCGGCTTGTGGCAC
306	TGTGCCACAAGCCGCATTACATTC	752	GAATGTGAATGCGGCTTGTGGCAC
307	CTGTGCCACAAGCCGCATTACATT	753	AATGTGAATGCGGCTTGTGGCACAG
308	ACTGTGCCACAAGCCGCATTACAT	754	ATGTGAATGCGGCTTGTGGCACAGT
309	AACTGTGCCACAAGCCGCATTACAC	755	TGTGAATGCGGCTTGTGGCACAGTT
310	CAACTGTGCCACAAGCCGCATTAC	756	GTGAATGCGGCTTGTGGCACAGTTG
311	TCAACTGTGCCACAAGCCGCATTCA	757	TGAATGCGGCTTGTGGCACAGTTGA
312	GTCAACTGTGCCACAAGCCGCATTTC	758	GAATGCGGCTTGTGGCACAGTTGAC
313	TGTCAACTGTGCCACAAGCCGCATT	759	AATGCGGCTTGTGGCACAGTTGACA
314	TTGTCAACTGTGCCACAAGCCGCAT	760	ATGCGGCTTGTGGCACAGTTGACAA
315	CTGTCAACTGTGCCACAAGCCGCA	761	TGCGGCTTGTGGCACAGTTGACAAG
316	CCTGTCAACTGTGCCACAAGCCGC	762	GCGGCTTGTGGCACAGTTGACAAGG
317	TCCTTGTCAACTGTGCCACAAGCCG	763	CGGCTTGTGGCACAGTTGACAAGGA
318	ATCCTTGTCAACTGTGCCACAAGCC	764	GGCTTGTGGCACAGTTGACAAGGAT
319	CATCCTTGTCAACTGTGCCACAAGC	765	GCTTGTGGCACAGTTGACAAGGATG
320	TCATCCTTGTCAACTGTGCCACAAG	766	CTTGTGGCACAGTTGACAAGGATGA
321	ATCATCCTTGTCAACTGTGCCACAA	767	TTGTGGCACAGTTGACAAGGATGAT
322	TATCATCCTTGTCAACTGTGCCACA	768	TGTGGCACAGTTGACAAGGATGATA
323	TTATCATCCTTGTCAACTGTGCCAC	769	GTGGCACAGTTGACAAGGATGATAA
324	TTTATCATCCTTGTCAACTGTGCCA	770	TGGCACAGTTGACAAGGATGATAAA
325	ATTATCATCCTTGTCAACTGTGCC	771	GGCACAGTTGACAAGGATGATAAAT
326	GATTTATCATCCTTGTCAACTGTGC	772	GCACAGTTGACAAGGATGATAAATC
327	TGATTTATCATCCTTGTCAACTGTG	773	CACAGTTGACAAGGATGATAAATCA
328	TTGATTTATCATCCTTGTCAACTGT	774	ACAGTTGACAAGGATGATAAATCAA
329	ATTGATTTATCATCCTTGTCAACTG	775	CAGTTGACAAGGATGATAAATCAAT
330	TATTGATTTATCATCCTTGTCAACT	776	AGTTGACAAGGATGATAAATCAATA
331	TTATTGATTTATCATCCTTGTCAAC	777	GTTGACAAGGATGATAAATCAATAA
332	ATTATTGATTTATCATCCTTGTCAA	778	TTGACAAGGATGATAAATCAATAAT
333	CATTATTGATTTATCATCCTTGTCA	779	TGACAAGGATGATAAATCAATAATG
334	GCATTATTGATTTATCATCCTTGTG	780	GACAAGGATGATAAATCAATAATGC
335	TGATTATTGATTTATCATCCTTGTG	781	ACAAGGATGATAAATCAATAATGCA
336	TTGCATTATTGATTTATCATCCTTG	782	CAAGGATGATAAATCAATAATGCAA
337	CTTGCAATTATTGATTTATCATCCTT	783	AAGGATGATAAATCAATAATGCAAG
338	GCTTGCAATTATTGATTTATCATCCT	784	AGGATGATAAATCAATAATGCAAGC
339	AGCTTGCAATTATTGATTTATCATCC	785	GGATGATAAATCAATAATGCAAGCT
340	AAGCTTGCAATTATTGATTTATCATC	786	GATGATAAATCAATAATGCAAGCTT
341	TAAGCTTGCAATTATTGATTTATCAT	787	ATGATAAATCAATAATGCAAGCTTA
342	GTAAGCTTGCAATTATTGATTTATCA	788	TGATAAATCAATAATGCAAGCTTAC
343	AGTAAGCTTGCAATTATTGATTTATC	789	GATAAATCAATAATGCAAGCTTACT
344	TAGTAAGCTTGCAATTATTGATTTAT	790	ATAAATCAATAATGCAAGCTTACTA
345	ATAGTAAGCTTGCAATTATTGATTAT	791	TAAATCAATAATGCAAGCTTACTAT
346	GATAGTAAGCTTGCAATTATTGATT	792	AAATCAATAATGCAAGCTTACTATC
347	TGATAGTAAGCTTGCAATTATTGATT	793	AATCAATAATGCAAGCTTACTATCA
348	ATGATAGTAAGCTTGCAATTATTGAT	794	ATCAATAATGCAAGCTTACTATCAT

10

20

30

40

【 0 2 1 4 】

50

【表 1 - 1 7】

349	AATGATAGTAAGCTTGCATTATTGA		795	TCAATAATGCAAGCTTACTATCATT
350	AAATGATAGTAAGCTTGCATTATTG		796	CAATAATGCAAGCTTACTATCATTTT
351	TAAATGATAGTAAGCTTGCATTATT		797	AATAATGCAAGCTTACTATCATTTA
352	ATAAATGATAGTAAGCTTGCATTAT		798	ATAATGCAAGCTTACTATCATTTAT
353	CATAAATGATAGTAAGCTTGCATTA		799	TAATGCAAGCTTACTATCATTTATG
354	TCATAAATGATAGTAAGCTTGCATT		800	AATGCAAGCTTACTATCATTTATGA
355	TTCATAAATGATAGTAAGCTTGCAT		801	ATGCAAGCTTACTATCATTTATGAA
356	ATTCATAAATGATAGTAAGCTTGCA		802	TGCAAGCTTACTATCATTTATGAAT
357	TATTCATAAATGATAGTAAGCTTGC		803	GCAAGCTTACTATCATTTATGAATA
358	CTATTCATAAATGATAGTAAGCTTG		804	CAAGCTTACTATCATTTATGAATAG
359	GCTATTCATAAATGATAGTAAGCTT		805	AAGCTTACTATCATTTATGAATAGC
360	TGCTATTCATAAATGATAGTAAGCT		806	AGCTTACTATCATTTATGAATAGCA
361	TTGCTATTCATAAATGATAGTAAGC		807	GCTTACTATCATTTATGAATAGCAA
362	ATTGCTATTCATAAATGATAGTAAG		808	CTTACTATCATTTATGAATAGCAAT
363	TATTGCTATTCATAAATGATAGTAA		809	TTACTATCATTTATGAATAGCAATA
364	GTATTGCTATTCATAAATGATAGTA		810	TACTATCATTTATGAATAGCAATAC
365	AGTATTGCTATTCATAAATGATAGT		811	ACTATCATTTATGAATAGCAATACT
366	CAGTATTGCTATTCATAAATGATAG		812	CTATCATTTATGAATAGCAATACTG
367	TCAGTATTGCTATTCATAAATGATA		813	TATCATTTATGAATAGCAATACTGA
368	TTCAGTATTGCTATTCATAAATGAT		814	ATCATTTATGAATAGCAATACTGAA
369	CTTCAGTATTGCTATTCATAAATGA		815	TCATTTATGAATAGCAATACTGAAG
370	TCTTCAGTATTGCTATTCATAAATG		816	CATTTATGAATAGCAATACTGAAGA
371	TTCTTCAGTATTGCTATTCATAAAT		817	ATTTATGAATAGCAATACTGAAGAA
372	TTTCTTCAGTATTGCTATTCATAAA		818	TTTATGAATAGCAATACTGAAGAAA
373	ATTTCTTCAGTATTGCTATTCATAA		819	TTATGAATAGCAATACTGAAGAAAT
374	AATTTCTTCAGTATTGCTATTCATA		820	TATGAATAGCAATACTGAAGAAATT
375	TAATTTCTTCAGTATTGCTATTCAT		821	ATGAATAGCAATACTGAAGAAATTA
376	TTAATTTCTTCAGTATTGCTATTCA		822	TGAATAGCAATACTGAAGAAATTA
377	TTTAATTTCTTCAGTATTGCTATT	ポリ A シグナ ル	823	GAATAGCAATACTGAAGAAATTA
378	TTTAAATTTCTTCAGTATTGCTATT	ポリ A シグナ ル	824	AATAGCAATACTGAAGAAATTA
379	GTTTAAATTTCTTCAGTATTGCTAT	ポリ A シグナ ル	825	ATAGCAATACTGAAGAAATTA
380	TGTTTAAATTTCTTCAGTATTGCTA	ポリ A シグナ ル	826	TAGCAATACTGAAGAAATTA
381	TTGTTTAAATTTCTTCAGTATTGCT	ポリ A シグナ ル	827	AGCAATACTGAAGAAATTA
382	TTTGTTTAAATTTCTTCAGTATTGC	ポリ A シグナ ル	828	GCAATACTGAAGAAATTA

【 0 2 1 5 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 8】

383	TTTGTGTTTAATTTCTTCAGTATTG	ポリ A シグナ ル	829	CAATACTGAAGAAATTAAAAACAAA
384	CTTTGTGTTTAATTTCTTCAGTATT	ポリ A シグナ ル	830	AATACTGAAGAAATTAAAAACAAAAG
385	TCTTTGTGTTTAATTTCTTCAGTAT	ポリ A シグナ ル	831	ATACTGAAGAAATTAAAAACAAAAGA
386	ATCTTTGTGTTTAATTTCTTCAGTA	ポリ A シグナ ル	832	TACTGAAGAAATTAAAAACAAAAGAT
387	AATCTTTGTGTTTAATTTCTTCAGT	ポリ A シグナ ル	833	ACTGAAGAAATTAAAAACAAAAGATT
388	CAATCTTTGTGTTTAATTTCTTCAG	ポリ A シグナ ル	834	CTGAAGAAATTAAAAACAAAAGATTG
389	GCAATCTTTGTGTTTAATTTCTTCA	ポリ A シグナ ル	835	TGAAGAAATTAAAAACAAAAGATTGC
390	AGCAATCTTTGTGTTTAATTTCTTC	ポリ A シグナ ル	836	GAAGAAATTAAAAACAAAAGATTGCT
391	CAGCAATCTTTGTGTTTAATTTCTT	ポリ A シグナ ル	837	AAGAAATTAAAAACAAAAGATTGCTG
392	ACAGCAATCTTTGTGTTTAATTTCT	ポリ A シグナ ル	838	AGAAATTAAAAACAAAAGATTGCTGT
393	GACAGCAATCTTTGTGTTTAATTTCT	ポリ A シグナ ル	839	GAAATTAAAAACAAAAGATTGCTGTC
394	AGACAGCAATCTTTGTGTTTAATTT	ポリ A シグナ ル	840	AAATTAAAAACAAAAGATTGCTGTCT
395	GAGACAGCAATCTTTGTGTTTAATT	ポリ A シグナ ルおよ び部位	841	AATTAAAAACAAAAGATTGCTGTCTC
396	TGAGACAGCAATCTTTGTGTTTAAT	ポリ A シグナ ルおよ び部位	842	ATTAAAAACAAAAGATTGCTGTCTCA

【 0 2 1 6 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 9】

397	TTGAGACAGCAATCTTTTGTTTAA	ポリ A 部位	843	TAAAAACAAAAGATTGCTGTCTCAA
398	ATTGAGACAGCAATCTTTTGTTTA	ポリ A 部位	844	TAAAAACAAAAGATTGCTGTCTCAAT
399	TATTGAGACAGCAATCTTTTGTTTT	ポリ A 部位	845	AAAAACAAAAGATTGCTGTCTCAATA
400	ATATTGAGACAGCAATCTTTTGTTT	ポリ A 部位	846	AAACAAAAGATTGCTGTCTCAATAT
401	TATATTGAGACAGCAATCTTTTGTT	ポリ A 部位	847	AACAAAAGATTGCTGTCTCAATATA
402	ATATATTGAGACAGCAATCTTTTGT	ポリ A 部位	848	ACAAAAGATTGCTGTCTCAATATAT
403	GATATATTGAGACAGCAATCTTTTG	ポリ A 部位	849	CAAAAGATTGCTGTCTCAATATATC
404	AGATATATTGAGACAGCAATCTTTT	ポリ A 部位	850	AAAAGATTGCTGTCTCAATATATCT
405	AAGATATATTGAGACAGCAATCTTT	ポリ A 部位	851	AAAGATTGCTGTCTCAATATATCTT
406	TAAGATATATTGAGACAGCAATCTT	ポリ A 部位	852	AAGATTGCTGTCTCAATATATCTTA
407	ATAAGATATATTGAGACAGCAATCT	ポリ A 部位	853	AGATTGCTGTCTCAATATATCTTAT
408	TATAAGATATATTGAGACAGCAATC	ポリ A 部位	854	GATTGCTGTCTCAATATATCTTATA
409	ATATAAGATATATTGAGACAGCAAT	ポリ A 部位	855	ATTGCTGTCTCAATATATCTTATAT
410	AATATAAGATATATTGAGACAGCAA	ポリ A 部位	856	TTGCTGTCTCAATATATCTTATATT
411	AAATATAAGATATATTGAGACAGCA	ポリ A 部位	857	TGCTGTCTCAATATATCTTATATTT
412	TAAATATAAGATATATTGAGACAGC	ポリ A 部位	858	GCTGTCTCAATATATCTTATATTTA
413	ATAAATATAAGATATATTGAGACAG		859	CTGTCTCAATATATCTTATATTTAT
414	AATAAATATAAGATATATTGAGACA		860	TGTCTCAATATATCTTATATTTATT
415	TAATAAATATAAGATATATTGAGAC		861	GTCTCAATATATCTTATATTTATTA
416	ATAATAAATATAAGATATATTGAGA		862	TCTCAATATATCTTATATTTATTAT
417	AATAATAAATATAAGATATATTGAG		863	CTCAATATATCTTATATTTATTATT
418	AAATAATAAATATAAGATATATTGA		864	TCAATATATCTTATATTTATTATTT
419	TAAATAATAAATATAAGATATATTG		865	CAATATATCTTATATTTATTATTTA
420	GTAATAATAAATATAAGATATATT		866	AATATATCTTATATTTATTATTTAC
421	GGTAAATAATAAATATAAGATATAT		867	ATATATCTTATATTTATTATTTACC
422	TGGTAAATAATAAATATAAGATATA		868	TATATCTTATATTTATTATTTACCA
423	TTGGTAAATAATAAATATAAGATAT		869	ATATCTTATATTTATTATTTACCAA
424	TTTGGTAAATAATAAATATAAGATA		870	TATCTTATATTTATTATTTACCAA
425	ATTGGTAAATAATAAATATAAGAT		871	ATCTTATATTTATTATTTACCAAAT

【 0 2 1 7 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 2 0】

426	AATTTGGTAAATAATAAATATAAGA	872	TCTTATATTTATTATTTACCAAATT
427	TAATTTGGTAAATAATAAATATAAG	873	CTTATATTTATTATTTACCAAATTA
428	ATAATTTGGTAAATAATAAATATAA	874	TTATATTTATTATTTACCAAATTAT
429	AATAATTTGGTAAATAATAAATATA	875	TATATTTATTATTTACCAAATTATT
430	GAATAATTTGGTAAATAATAAATAT	876	ATATTTATTATTTACCAAATTATTCT
431	AGAATAATTTGGTAAATAATAAATA	877	TATTTATTATTTACCAAATTATTCT
432	TAGAATAATTTGGTAAATAATAAAT	878	ATTTATTATTTACCAAATTATTCTA
433	TTAGAATAATTTGGTAAATAATAAA	879	TTTATTATTTACCAAATTATTCTAA
434	CTTAGAATAATTTGGTAAATAATAA	880	TTATTATTTACCAAATTATTCTAAG
435	TCTTAGAATAATTTGGTAAATAATA	881	TATTATTTACCAAATTATTCTAAGA
436	CTCTTAGAATAATTTGGTAAATAAT	882	ATTATTTACCAAATTATTCTAAGAG
437	ACTCTTAGAATAATTTGGTAAATAA	883	TTATTTACCAAATTATTCTAAGAGT
438	TACTCTTAGAATAATTTGGTAAATA	884	TATTTACCAAATTATTCTAAGAGTA
439	ATACTCTTAGAATAATTTGGTAAAT	885	ATTTACCAAATTATTCTAAGAGTAT
440	AATACTCTTAGAATAATTTGGTAAA	886	TTTACCAAATTATTCTAAGAGTATT
441	AAATACTCTTAGAATAATTTGGTAA	887	TTACCAAATTATTCTAAGAGTATTT
442	GAAATACTCTTAGAATAATTTGGTA	888	TACCAAATTATTCTAAGAGTATTTCT
443	AGAAATACTCTTAGAATAATTTGGT	889	ACCAAATTATTCTAAGAGTATTTCT
444	AAGAAATACTCTTAGAATAATTTGG	890	CCAAATTATTCTAAGAGTATTTCTT
445	GAAGAAATACTCTTAGAATAATTTG	891	CAAATTATTCTAAGAGTATTTCTTC
446	GGAAGAAATACTCTTAGAATAATTT	892	AAATTATTCTAAGAGTATTTCTTCC

10

20

*オリゴヌクレオチド配列の少なくとも1つ(すなわち、1つまたは複数)のヌクレオシド結合は、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィナート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホラミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、ホスホロジアミデート(例えば、ホスホロジアミデートモルホリノ(PMO)、3'アミノリボース、または5'アミノリボースを含む)結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合から独立して選択される。

30

【0218】

以下の表2は、さらなるSTMN2 AON配列を識別する。

【0219】

40

50

【表 2 - 1】

表 2.さらなる STMN2 AON 配列(配列番号 1~446 に対応するが、ウラシル塩基で置換されたチミン塩基を有する)

配列番号	AON 配列* (5'→3')
893	GGAGGGGAUACCUGUAUAUUACAAGU
894	AGGAGGGGAUACCUGUAUAUUACAAG
895	CAGGAGGGGAUACCUGUAUAUUACAA
896	CCAGGAGGGGAUACCUGUAUAUUACA
897	ACCAGGAGGGGAUACCUGUAUAUUAC
898	UACCAGGAGGGGAUACCUGUAUAUUA
899	UUACCAGGAGGGGAUACCUGUAUAUU
900	CUUACCAGGAGGGGAUACCUGUAUAU
901	GCUUACCAGGAGGGGAUACCUGUAUA
902	AGCUUACCAGGAGGGGAUACCUGUAU
903	GAGCUUACCAGGAGGGGAUACCUGUA
904	AGAGCUUACCAGGAGGGGAUACCUGU
905	CAGAGCUUACCAGGAGGGGAUACCUG
906	CCAGAGCUUACCAGGAGGGGAUACCU
907	ACCAGAGCUUACCAGGAGGGGAUACC
908	UACCAGAGCUUACCAGGAGGGGAUAC
909	AUACCAGAGCUUACCAGGAGGGGAUA
910	AAUACCAGAGCUUACCAGGAGGGGAU
911	UAAUACCAGAGCUUACCAGGAGGGGA
912	AUAAUACCAGAGCUUACCAGGAGGGG
913	CAUAAUACCAGAGCUUACCAGGAGG
914	ACAUAAUACCAGAGCUUACCAGGAG
915	GACAUAAUACCAGAGCUUACCAGGA
916	AGACAUAAUACCAGAGCUUACCAGG
917	AAGACAUAAUACCAGAGCUUACCAG
918	UAAGACAUAAUACCAGAGCUUACCA
919	UUAAGACAUAAUACCAGAGCUUACC
920	GUUAAAGACAUAAUACCAGAGCUUAC
921	UGUUAAGACAUAAUACCAGAGCUUA
922	AUGUUAAGACAUAAUACCAGAGCUU
923	AAUGUUAAGACAUAAUACCAGAGCU
924	AAAUGUUAAGACAUAAUACCAGAGC
925	AAAAUGUUAAGACAUAAUACCAGAG
926	AAAAAUGUUAAGACAUAAUACCAGA
927	UAAAAAUGUUAAGACAUAAUACCAG
928	UUAAAAAUGUUAAGACAUAAUACCA
929	UUUAAAAAUGUUAAGACAUAAUACC
930	AUUUAAAAAUGUUAAGACAUAAUAC
931	GAUUUAAAAAUGUUAAGACAUAAUA
932	AGAUUUAAAAAUGUUAAGACAUAAU
933	UAGAUUUAAAAAUGUUAAGACAUAA
934	AUAGAUUUAAAAAUGUUAAGACAU
935	CAUAGAUUUAAAAAUGUUAAGACAU
936	CCAUAGAUUUAAAAAUGUUAAGACA
937	ACCAUAGAUUUAAAAAUGUUAAGAC
938	UACCAUAGAUUUAAAAAUGUUAAGA
939	UUACCAUAGAUUUAAAAAUGUUAAG

10

20

30

40

【 0 2 2 0 】

50

【表 2 - 2】

940	AUUACCAUAGAUUUAAAAAUGUUA
941	GAUUACCAUAGAUUUAAAAAUGUUA
942	AGAUUACCAUAGAUUUAAAAAUGUU
943	AAGAUUACCAUAGAUUUAAAAAUGU
944	AAAGAUUACCAUAGAUUUAAAAAUG
945	UAAAGAUUACCAUAGAUUUAAAAAU
946	GUAAAGAUUACCAUAGAUUUAAAAA
947	UGUAAAGAUUACCAUAGAUUUAAAA
948	UUGUAAAGAUUACCAUAGAUUUAAA
949	UUUGUAAAGAUUACCAUAGAUUUAA
950	UUUUGUAAAGAUUACCAUAGAUUU
951	AUUUUGUAAAGAUUACCAUAGAUUU
952	UAUUUUGUAAAGAUUACCAUAGAUU
953	AUAUUUUGUAAAGAUUACCAUAGAU
954	AAUAUUUUGUAAAGAUUACCAUAGA
955	AAAUUUUUGUAAAGAUUACCAUAG
956	AAAAUAUUUUGUAAAGAUUACCAUA
957	UAAAAUAUUUUGUAAAGAUUACCAU
958	GUAAAAUAUUUUGUAAAGAUUACCA
959	AGUAAAAUAUUUUGUAAAGAUUACC
960	AAGUAAAAUAUUUUGUAAAGAUUAC
961	GAAGUAAAAUAUUUUGUAAAGAUUA
962	GGAAGUAAAAUAUUUUGUAAAGAUU
963	CGGAAGUAAAAUAUUUUGUAAAGAU
964	UCGGAAGUAAAAUAUUUUGUAAAGA
965	UUCGGAAGUAAAAUAUUUUGUAAAG
966	GUUCGGAAGUAAAAUAUUUUGUAAA
967	AGUUCGGAAGUAAAAUAUUUUGUAA
968	GAGUUCGGAAGUAAAAUAUUUUGUA
969	UGAGUUCGGAAGUAAAAUAUUUUGU
970	AUGAGUUCGGAAGUAAAAUAUUUUG
971	UAUGAGUUCGGAAGUAAAAUAUUUU
972	AUAUGAGUUCGGAAGUAAAAUAUUU
973	UAUAUGAGUUCGGAAGUAAAAUAUU
974	GUUAUAUGAGUUCGGAAGUAAAAUAU
975	GGUAUAUGAGUUCGGAAGUAAAAUA
976	AGGUAUAUGAGUUCGGAAGUAAAAU
977	CAGGUAUAUGAGUUCGGAAGUAAAA
978	CCAGGUAUAUGAGUUCGGAAGUAAA
979	CCCAGGUAUAUGAGUUCGGAAGUAA
980	CCCCAGGUAUAUGAGUUCGGAAGUA
981	UCCCCAGGUAUAUGAGUUCGGAAGU
982	AUCCCCAGGUAUAUGAGUUCGGAAG
983	AAUCCCCAGGUAUAUGAGUUCGGA
984	AAAUCCCCAGGUAUAUGAGUUCGGA
985	AAAAUCCCCAGGUAUAUGAGUUCGG
986	UAAAAUCCCCAGGUAUAUGAGUUCG
987	AUAAAAUCCCCAGGUAUAUGAGUUC
988	AAUAAAAUCCCCAGGUAUAUGAGUU

10

20

30

40

【 0 2 2 1 】

50

【表 2 - 3】

989	UAAUAAAAUCCCCAGGUUAUAUGAGU
990	GUAAUAAAAUCCCCAGGUUAUAUGAG
991	AGUAAUAAAAUCCCCAGGUUAUAUGA
992	GAGUAAUAAAAUCCCCAGGUUAUAUG
993	AGAGUAAUAAAAUCCCCAGGUUAUAU
994	CAGAGUAAUAAAAUCCCCAGGUUAUA
995	CCAGAGUAAUAAAAUCCCCAGGUUAU
996	CCCAGAGUAAUAAAAUCCCCAGGUUA
997	UCCCAGAGUAAUAAAAUCCCCAGGU
998	UCCCAGAGUAAUAAAAUCCCCAGG
999	AUCCCAGAGUAAUAAAAUCCCCAG
1000	AAUCCCAGAGUAAUAAAAUCCCCA
1001	UAAUCCCAGAGUAAUAAAAUCCCC
1002	AUAAUCCCAGAGUAAUAAAAUCCC
1003	CAUAAUCCCAGAGUAAUAAAAUCC
1004	ACAUAAUCCCAGAGUAAUAAAAUC
1005	CACAUAAUCCCAGAGUAAUAAAAU
1006	ACACAUAAUCCCAGAGUAAUAAAA
1007	AACACAUAAUCCCAGAGUAAUAAA
1008	GAACACAUAAUCCCAGAGUAAUAA
1009	AGAACACAUAAUCCCAGAGUAAUA
1010	CAGAACACAUAAUCCCAGAGUAAU
1011	GCAGAACACAUAAUCCCAGAGUAA
1012	GGCAGAACACAUAAUCCCAGAGUA
1013	GGGCAGAACACAUAAUCCCAGAGU
1014	GGGGCAGAACACAUAAUCCCAGAG
1015	UGGGGCAGAACACAUAAUCCCAGA
1016	AUGGGGCAGAACACAUAAUCCCAG
1017	GAUGGGGCAGAACACAUAAUCCCCA
1018	UGAUGGGGCAGAACACAUAAUCCC
1019	GUGAUGGGGCAGAACACAUAAUCC
1020	AGUGAUGGGGCAGAACACAUAAUUC
1021	GAGUGAUGGGGCAGAACACAUAAUU
1022	AGAGUGAUGGGGCAGAACACAUAAU
1023	GAGAGUGAUGGGGCAGAACACAUAA
1024	AGAGAGUGAUGGGGCAGAACACAU
1025	GAGAGAGUGAUGGGGCAGAACACAU
1026	AGAGAGAGUGAUGGGGCAGAACACA
1027	AAGAGAGAGUGAUGGGGCAGAACAC
1028	UAAGAGAGAGUGAUGGGGCAGAAC
1029	UUAAGAGAGAGUGAUGGGGCAGAAC
1030	AUUAAGAGAGAGUGAUGGGGCAGAA
1031	AAUUAAGAGAGAGUGAUGGGGCAGA
1032	CAAUUAAGAGAGAGUGAUGGGGCAG
1033	CCAAUUAAGAGAGAGUGAUGGGGCA
1034	UCCAAUUAAGAGAGAGUGAUGGGGC
1035	AUCCAAUUAAGAGAGAGUGAUGGGG
1036	AAUCCAAUUAAGAGAGAGUGAUGGG
1037	AAAUCCAAUUAAGAGAGAGUGAUGG
1038	AAAAUCCAAUUAAGAGAGAGUGAUG

10

20

30

40

【 0 2 2 2 】

50

【表 2 - 4】

1039	AAAAAUCCAAUUAAGAGAGAGUGAU
1040	UAAAAAUCCAAUUAAGAGAGAGUGA
1041	UUAAAAAUCCAAUUAAGAGAGAGUG
1042	UUUAAAAAUCCAAUUAAGAGAGAGU
1043	UUUUAAAAAUCCAAUUAAGAGAGAG
1044	AUUUUAAAAAUCCAAUUAAGAGAGA
1045	AAUUUUAAAAAUCCAAUUAAGAGAG
1046	UAAUUUUAAAAAUCCAAUUAAGAGA
1047	AUAAUUUUAAAAAUCCAAUUAAGAG
1048	UAUAAUUUUAAAAAUCCAAUUAAGA
1049	AUAUAAUUUUAAAAAUCCAAUUAAG
1050	AAUAUAAUUUUAAAAAUCCAAUUA
1051	GAAUAUAAUUUUAAAAAUCCAAUUA
1052	UGAAUAUAAUUUUAAAAAUCCAAU
1053	AUGAAUAUAAUUUUAAAAAUCCAAU
1054	UAUGAAUAUAAUUUUAAAAAUCCAA
1055	AUAUGAAUAUAAUUUUAAAAAUCCA
1056	AAUAUGAAUAUAAUUUUAAAAAUCC
1057	CAUAUGAAUAUAAUUUUAAAAAUCC
1058	GCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAAAU
1059	UGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAAAU
1060	CUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAAAU
1061	CCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1062	UCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1063	GUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1064	AGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1065	GAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1066	CGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1067	CCGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1068	GCCGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1069	UGCCGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1070	CUGCCGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1071	UCUGCCGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1072	UUCUGCCGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1073	CUUCUGCCGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1074	UCUUCUGCCGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1075	GUCUUCUGCCGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1076	GGUCUUCUGCCGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1077	AGGUCUUCUGCCGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1078	AAGGUCUUCUGCCGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1079	GAAGGUCUUCUGCCGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1080	CGAAGGUCUUCUGCCGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1081	UCGAAGGUCUUCUGCCGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1082	CUCGAAGGUCUUCUGCCGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1083	UCUCGAAGGUCUUCUGCCGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1084	CUCUCGAAGGUCUUCUGCCGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1085	UCUCUCGAAGGUCUUCUGCCGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1086	UUCUCUCGAAGGUCUUCUGCCGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1087	UUUCUCUCGAAGGUCUUCUGCCGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA
1088	CUUUCUCUCGAAGGUCUUCUGCCGAGUCCUGCAUAUGAAUAUAAUUUUAAAA

10

20

30

40

【 0 2 2 3 】

50

【表 2 - 5】

1089	CCUUUCUCUCGAAGGUCUUCUGCCG
1090	ACCUUUCUCUCGAAGGUCUUCUGCC
1091	UACCUUUCUCUCGAAGGUCUUCUGC
1092	CUACCUUUCUCUCGAAGGUCUUCUG
1093	UCUACCUUUCUCUCGAAGGUCUUCU
1094	UUCUACCUUUCUCUCGAAGGUCUUC
1095	UUUCUACCUUUCUCUCGAAGGUCUU
1096	UUUUCUACCUUUCUCUCGAAGGUCU
1097	AUUUUCUACCUUUCUCUCGAAGGUC
1098	UAUUUUCUACCUUUCUCUCGAAGGU
1099	UUAUUUUCUACCUUUCUCUCGAAGG
1100	CUUAUUUUCUACCUUUCUCUCGAAG
1101	UCUUAUUUUCUACCUUUCUCUCGAA
1102	UUCUUAUUUUCUACCUUUCUCUCGA
1103	AUUCUUAUUUUCUACCUUUCUCUCG
1104	AAUUCUUAUUUUCUACCUUUCUCUC
1105	AAAUUCUUAUUUUCUACCUUUCUCU
1106	CAAAUUCUUAUUUUCUACCUUUCUC
1107	CCAAAUUCUUAUUUUCUACCUUUCU
1108	GCCAAAUUCUUAUUUUCUACCUUUC
1109	AGCCAAAUUCUUAUUUUCUACCUUU
1110	GAGCCAAAUUCUUAUUUUCUACCUU
1111	AGAGCCAAAUUCUUAUUUUCUACCU
1112	GAGAGCCAAAUUCUUAUUUUCUACC
1113	AGAGAGCCAAAUUCUUAUUUUCUAC
1114	CAGAGAGCCAAAUUCUUAUUUUCUA
1115	ACAGAGAGCCAAAUUCUUAUUUUCU
1116	CACAGAGAGCCAAAUUCUUAUUUUC
1117	ACACAGAGAGCCAAAUUCUUAUUUU
1118	CACACAGAGAGCCAAAUUCUUAUUU
1119	UCACACAGAGAGCCAAAUUCUUAUU
1120	CUCACACAGAGAGCCAAAUUCUUAU
1121	GCUCACACAGAGAGCCAAAUUCUUA
1122	UGCUCACACAGAGAGCCAAAUUCUU
1123	AUGCUCACACAGAGAGCCAAAUUCU
1124	CAUGCUCACACAGAGAGCCAAAUUC
1125	ACAUGCUCACACAGAGAGCCAAAUU
1126	CACAUGCUCACACAGAGAGCCAAAU
1127	ACACAUGCUCACACAGAGAGCCAAA
1128	CACACAUGCUCACACAGAGAGCCAA
1129	GCACACAUGCUCACACAGAGAGCCAA
1130	CGCACACAUGCUCACACAGAGAGCC
1131	ACGCACACAUGCUCACACAGAGAGC
1132	CACGCACACAUGCUCACACAGAGAG
1133	ACACGCACACAUGCUCACACAGAGA
1134	CACACGCACACAUGCUCACACAGAG
1135	ACACACGCACACAUGCUCACACAGA
1136	CACACACGCACACAUGCUCACACAG
1137	GCACACACGCACACAUGCUCACACA
1138	CGCACACACGCACACAUGCUCACAC

10

20

30

40

【 0 2 2 4】

50

【表 2 - 6】

1139	UCGCACACACGCACACAUGCUCACA
1140	CUCGCACACACGCACACAUGCUCAC
1141	UCUCGCACACACGCACACAUGCUCA
1142	CUCUCGCACACACGCACACAUGCUC
1143	UCUCUCGCACACACGCACACAUGCUC
1144	CUCUCUCGCACACACGCACACAUGC
1145	UCUCUCUCGCACACACGCACACAUGC
1146	CUCUCUCUCGCACACACGCACACAUC
1147	UCUCUCUCUCGCACACACGCACACACA
1148	CUCUCUCUCUCGCACACACGCACACAC
1149	UCUCUCUCUCUCGCACACACGCACACA
1150	GUCUCUCUCUCUCGCACACACGCACAC
1151	UGUCUCUCUCUCUCGCACACACGCACA
1152	CUGUCUCUCUCUCUCGCACACACGCAC
1153	UCUGUCUCUCUCUCUCGCACACACGC
1154	GUCUGUCUCUCUCUCUCGCACACACAC
1155	UGUCUGUCUCUCUCUCUCGCACACACA
1156	CUGUCUGUCUCUCUCUCUCGCACACAC
1157	GCUGUCUGUCUCUCUCUCUCGCACACA
1158	GGCUGUCUGUCUCUCUCUCUCGCACAC
1159	AGGCUGUCUGUCUCUCUCUCUCGCACA
1160	CAGGCUGUCUGUCUCUCUCUCUCUCGC
1161	GCAGGCUGUCUGUCUCUCUCUCUCUCG
1162	GGCAGGCUGUCUGUCUCUCUCUCUCUC
1163	AGGCAGGCUGUCUGUCUCUCUCUCUCU
1164	UAGGCAGGCUGUCUGUCUCUCUCUCUC
1165	UUAGGCAGGCUGUCUGUCUCUCUCUCU
1166	CUUAGGCAGGCUGUCUGUCUCUCUCUC
1167	UCUUAGGCAGGCUGUCUGUCUCUCUCU
1168	UUCUUAGGCAGGCUGUCUGUCUCUCUC
1169	CUUCUUAGGCAGGCUGUCUGUCUCUCU
1170	UCUUCUUAGGCAGGCUGUCUGUCUCUC
1171	UUCUUCUUAGGCAGGCUGUCUGUCUCU
1172	UUUCUUCUUAGGCAGGCUGUCUGUCUC
1173	AUUUCUUCUUAGGCAGGCUGUCUGUCU
1174	CAUUUCUUCUUAGGCAGGCUGUCUGUC
1175	UCAUUUCUUCUUAGGCAGGCUGUCUCU
1176	UUCAUUUUCUUCUUAGGCAGGCUGUCUC
1177	AUUCAUUUUCUUCUUAGGCAGGCUGUCU
1178	CAUUCAUUUUCUUCUUAGGCAGGCUGUC
1179	ACAUUCAUUUUCUUCUUAGGCAGGCUCU
1180	CACAUUCAUUUUCUUCUUAGGCAGGCUC
1181	UCACAUUCAUUUUCUUCUUAGGCAGGCUC
1182	UUCACAUUCAUUUUCUUCUUAGGCAGGCUC
1183	AUUCACAUUCAUUUUCUUCUUAGGCAGGCUC
1184	CAUUCACAUUCAUUUUCUUCUUAGGCAGGCUC
1185	GCAUUCACAUUCAUUUUCUUCUUAGGCAGGCUC
1186	CGCAUUCACAUUCAUUUUCUUCUUAGGCAGGCUC
1187	CCGCAUUCACAUUCAUUUUCUUCUUAGGCAGGCUC
1188	GCCGCAUUCACAUUCAUUUUCUUCUUAGGCAGGCUC

10

20

30

40

【 0 2 2 5 】

50

【表 2 - 7】

1189	AGCCGCAUUCACAUUCAUUUCUUCU
1190	AAGCCGCAUUCACAUUCAUUUCUUC
1191	CAAGCCGCAUUCACAUUCAUUUCUUC
1192	ACAAGCCGCAUUCACAUUCAUUUCUUC
1193	CACAAGCCGCAUUCACAUUCAUUUC
1194	CCACAAGCCGCAUUCACAUUCAUUU
1195	GCCACAAGCCGCAUUCACAUUCAUU
1196	UGCCACAAGCCGCAUUCACAUUCAU
1197	GUGCCACAAGCCGCAUUCACAUUCA
1198	UGUGCCACAAGCCGCAUUCACAUUC
1199	CUGUGCCACAAGCCGCAUUCACAUU
1200	ACUGUGCCACAAGCCGCAUUCACAU
1201	AACUGUGCCACAAGCCGCAUUCACA
1202	CAACUGUGCCACAAGCCGCAUUCAC
1203	UCAAACUGUGCCACAAGCCGCAUUCA
1204	GUCAAACUGUGCCACAAGCCGCAUUC
1205	UGUCAAACUGUGCCACAAGCCGCAUU
1206	UUGUCAAACUGUGCCACAAGCCGCAU
1207	CUUGUCAAACUGUGCCACAAGCCGCA
1208	CCUUGUCAAACUGUGCCACAAGCCGC
1209	UCCUUGUCAAACUGUGCCACAAGCCG
1210	AUCCUUGUCAAACUGUGCCACAAGCC
1211	CAUCCUUGUCAAACUGUGCCACAAGC
1212	UCAUCCUUGUCAAACUGUGCCACAAG
1213	AUCAUCCUUGUCAAACUGUGCCACAA
1214	UAUCAUCCUUGUCAAACUGUGCCACA
1215	UUAUCAUCCUUGUCAAACUGUGCCAC
1216	UUUAUCAUCCUUGUCAAACUGUGCCA
1217	AUUUAUCAUCCUUGUCAAACUGUGCC
1218	GAUUUAUCAUCCUUGUCAAACUGUGC
1219	UGAUUUUAUCAUCCUUGUCAAACUGUG
1220	UUGAUUUUAUCAUCCUUGUCAAACUGU
1221	AUUGAUUUUAUCAUCCUUGUCAAACUG
1222	UAUUGAUUUUAUCAUCCUUGUCAAACU
1223	UUAUUGAUUUUAUCAUCCUUGUCAAC
1224	AUUAUUGAUUUUAUCAUCCUUGUCAAA
1225	CAUUAUUGAUUUUAUCAUCCUUGUCA
1226	GCAUUAUUGAUUUUAUCAUCCUUGUC
1227	UGCAUUAUUGAUUUUAUCAUCCUUGU
1228	UUGCAUUAUUGAUUUUAUCAUCCUUG
1229	CUUGCAUUAUUGAUUUUAUCAUCCUU
1230	GCUUGCAUUAUUGAUUUUAUCAUCCU
1231	AGCUUGCAUUAUUGAUUUUAUCAUCC
1232	AAGCUUGCAUUAUUGAUUUUAUCAUC
1233	UAAGCUUGCAUUAUUGAUUUUAUCAU
1234	GUAAGCUUGCAUUAUUGAUUUUAUCA
1235	AGUAAGCUUGCAUUAUUGAUUUUAUC
1236	UAGUAAGCUUGCAUUAUUGAUUUUAU
1237	AUAGUAAGCUUGCAUUAUUGAUUUUA
1238	GAUAGUAAGCUUGCAUUAUUGAUUU

10

20

30

40

【 0 2 2 6 】

50

【表 2 - 8】

1239	UGAUAGUAAGCUUGCAUUAUUGAUU
1240	AUGAUAGUAAGCUUGCAUUAUUGAU
1241	AAUGAUAGUAAGCUUGCAUUAUUGA
1242	AAAUGAUAGUAAGCUUGCAUUAUUG
1243	UAAAUGAUAGUAAGCUUGCAUUAU
1244	AUAAAUGAUAGUAAGCUUGCAUUAU
1245	CAUAAAUGAUAGUAAGCUUGCAUUA
1246	UCAUAAAUGAUAGUAAGCUUGCAUU
1247	UUCAUAAAUGAUAGUAAGCUUGCAU
1248	AUUCAUAAAUGAUAGUAAGCUUGCA
1249	UAUUCAUAAAUGAUAGUAAGCUUGC
1250	CUAUUCAUAAAUGAUAGUAAGCUUG
1251	GCUAUUCAUAAAUGAUAGUAAGCUU
1252	UGCUAUUCAUAAAUGAUAGUAAGCU
1253	UUGCUAUUCAUAAAUGAUAGUAAGC
1254	AUUGCUAUUCAUAAAUGAUAGUAAG
1255	UAUUGCUAUUCAUAAAUGAUAGUAA
1256	GUAUUGCUAUUCAUAAAUGAUAGUA
1257	AGUAUUGCUAUUCAUAAAUGAUAGU
1258	CAGUAUUGCUAUUCAUAAAUGAUAG
1259	UCAGUAUUGCUAUUCAUAAAUGAUA
1260	UUCAGUAUUGCUAUUCAUAAAUGAU
1261	CUUCAGUAUUGCUAUUCAUAAAUGA
1262	UCUUCAGUAUUGCUAUUCAUAAAUG
1263	UUCUUCAGUAUUGCUAUUCAUAAAU
1264	UUUCUUCAGUAUUGCUAUUCAUAAA
1265	AUUUCUUCAGUAUUGCUAUUCAUAA
1266	AAUUUCUUCAGUAUUGCUAUUCAUA
1267	UAAUUUCUUCAGUAUUGCUAUUCAU
1268	UUAAUUUCUUCAGUAUUGCUAUUCA
1269	UUUAAUUUCUUCAGUAUUGCUAUUC
1270	UUUUAAUUUCUUCAGUAUUGCUAUU
1271	GUUUUAAUUUCUUCAGUAUUGCUAU
1272	UGUUUUAAUUUCUUCAGUAUUGCUA
1273	UUGUUUUAAUUUCUUCAGUAUUGCU
1274	UUUGUUUUAAUUUCUUCAGUAUUGC
1275	UUUUGUUUUAAUUUCUUCAGUAUUG
1276	CUUUUGUUUUAAUUUCUUCAGUAUU
1277	UCUUUUGUUUUAAUUUCUUCAGUAU
1278	AUCUUUUGUUUUAAUUUCUUCAGUA
1279	AAUCUUUUGUUUUAAUUUCUUCAGU
1280	CAAUCUUUUGUUUUAAUUUCUUCAG
1281	GCAAUCUUUUGUUUUAAUUUCUUCA
1282	AGCAAUCUUUUGUUUUAAUUUCUUC
1283	CAGCAAUCUUUUGUUUUAAUUUCUU
1284	ACAGCAAUCUUUUGUUUUAAUUUCU
1285	GACAGCAAUCUUUUGUUUUAAUUUC
1286	AGACAGCAAUCUUUUGUUUUAAUUU
1287	GAGACAGCAAUCUUUUGUUUUAAUU
1288	UGAGACAGCAAUCUUUUGUUUUAAU

10

20

30

40

【 0 2 2 7 】

50

【表 2 - 9】

1289	UUGAGACAGCAAUCUUUUUGUUUUAA
1290	AUUGAGACAGCAAUCUUUUUGUUUUUA
1291	UAUUGAGACAGCAAUCUUUUUGUUUU
1292	AUAUUGAGACAGCAAUCUUUUUGUUU
1293	UAUAUUGAGACAGCAAUCUUUUUGUU
1294	AUAUAUUGAGACAGCAAUCUUUUUGU
1295	GAUAUAUUGAGACAGCAAUCUUUUUG
1296	AGAUUAUUGAGACAGCAAUCUUUUU
1297	AAGAUUAUUGAGACAGCAAUCUUUU
1298	UAAGAUUAUUGAGACAGCAAUCUU
1299	AUAAGAUUAUUGAGACAGCAAUCU
1300	UAUAAGAUUAUUGAGACAGCAAUC
1301	AUAUAAGAUUAUUGAGACAGCAAU
1302	AAUAUAAGAUUAUUGAGACAGCAA
1303	AAAUAUAAGAUUAUUGAGACAGCA
1304	UAAUAUAAGAUUAUUGAGACAGC
1305	AUAAUAUAAGAUUAUUGAGACAG
1306	AAUAAUAUAAGAUUAUUGAGACA
1307	UAAUAAUAUAAGAUUAUUGAGAC
1308	AUAUAAUAUAAGAUUAUUGAGA
1309	AAUAAUAUAUAAGAUUAUUGAG
1310	AAAUAAUAUAUAAGAUUAUUGA
1311	UAAAUAAUAUAUAAGAUUAUUG
1312	GUAAAUAAUAUAUAAGAUUAU
1313	GGUAAAUAAUAUAUAAGAUUAU
1314	UGGUAAAUAAUAUAUAAGAUUA
1315	UUGGUAAAUAAUAUAUAAGAUUA
1316	UUUGGUAAAUAAUAUAUAAGAUUA
1317	AUUUGGUAAAUAAUAUAUAAGAU
1318	AAUUUGGUAAAUAAUAUAUAAGA
1319	UAAUUUGGUAAAUAAUAUAUAAG
1320	AUAAUUUGGUAAAUAAUAUAUA
1321	AAUAAUUUGGUAAAUAAUAUAUA
1322	GAAUAAUUUGGUAAAUAAUAUAU
1323	AGAAUAAUUUGGUAAAUAAUAUA
1324	UAGAAUAAUUUGGUAAAUAAUAUA
1325	UUAGAAUAAUUUGGUAAAUAAUA
1326	CUUAGAAUAAUUUGGUAAAUAAUA
1327	UCUUAGAAUAAUUUGGUAAAUAAUA
1328	CUCUUAGAAUAAUUUGGUAAAUAAU
1329	ACUCUUAGAAUAAUUUGGUAAAUAA
1330	UACUCUUAGAAUAAUUUGGUAAAUAA
1331	AUACUCUUAGAAUAAUUUGGUAAAU
1332	AAUACUCUUAGAAUAAUUUGGUAAA
1333	AAAUACUCUUAGAAUAAUUUGGUAA
1334	GAAAUACUCUUAGAAUAAUUUGGUA
1335	AGAAAUACUCUUAGAAUAAUUUGGU
1336	AAGAAUACUCUUAGAAUAAUUUGG

10

20

30

40

【 0 2 2 8 】

50

【表 2 - 1 0】

1337	GAAGAAAUACUCUUAGAAUAAUUUG
1338	GGAAGAAAUACUCUUAGAAUAAUUU

*オリゴヌクレオチド配列の少なくとも1つ(すなわち、1つまたは複数)のヌクレオシド結合は、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィナート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホラミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、ホスホロジアミデート(例えば、ホスホロジアミデートモルホリノ(PMO)、3'アミノリボース、または5'アミノリボースを含む)結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合から独立して選択される。

10

【0 2 2 9】

以下の表 3 は、例となる S T M N 2 A O N 配列を識別する。

【0 2 3 0】

20

30

40

50

【表 3 - 1】

表 3. 本開示に記載されるそれぞれの 1 つまたは複数のスパーサーにおける例となる STMN2 AON 配列が、本発明のオリゴヌクレオチドの生成のため組み込まれる

配列番号 (レガシーID*)	オリゴヌクレオチド配列(5'→3')
配列番号 31	AATGTTAAGACATAATACCAGAGCT
配列番号 36	TTAAAAATGTTAAGACATAATACCA
配列番号 41	TAGATTTAAAAATGTTAAGACATAA
配列番号 46	TACCATAGATTTAAAAATGTTAAGA
配列番号 55	TGTAAAGATTACCATAGATTTAAAA
配列番号 144	AATCCAATTAAGAGAGAGTGATGGG
配列番号 146	AAAATCCAATTAAGAGAGAGTGATG
配列番号 150	TTTAAAAATCCAATTAAGAGAGAGT
配列番号 169	CCTGCAATATGAATATAATTTTAAA
配列番号 170	TCCTGCAATATGAATATAATTTTAA
配列番号 171	GTCCTGCAATATGAATATAATTTTA
配列番号 172	AGTCCTGCAATATGAATATAATTTT
配列番号 173	GAGTCCTGCAATATGAATATAATTT
配列番号 177	TGCCGAGTCCTGCAATATGAATATA
配列番号 181	CTTCTGCCGAGTCCTGCAATATGAA
配列番号 185	AGGTCTTCTGCCGAGTCCTGCAATA
配列番号 197	CCTTTCTCTCGAAGGTCTTCTGCCG
配列番号 203	TTTCTACCTTTCTCTCGAAGGTCTT
配列番号 209	TCTTATTTTCTACCTTTCTCTCGAA
配列番号 215	CCAAATTCTTATTTTCTACCTTTCT
配列番号 237	GCACACATGCTCACACAGAGAGCCA
配列番号 244	CACACACGCACACATGCTCACACAG
配列番号 249	TCTCGCACACACGCACACATGCTCA
配列番号 252	CTCTCTCGCACACACGCACACATGC
配列番号 380	TGTTTTAATTTCTTCAGTATTGCTA
配列番号 385	TCTTTTGTTTTAATTTCTTCAGTAT
配列番号 390	AGCAATCTTTTGTTTTAATTTCTTC

10

20

30

40

【 0 2 3 1 】

【表 3 - 2】

配列番号 395	GAGACAGCAATCTTTTGTTTAAATT
配列番号 400	ATATTGAGACAGCAATCTTTTGTTT

*オリゴヌクレオチド配列の少なくとも 1 つ(すなわち、1 つまたは複数)のヌクレオシド結合は、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィナート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホラミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、ホスホロジアミデート(例えば、ホスホロジアミデートモルホリノ(PMO)、3'アミノリボース、または 5'アミノリボースを含む)結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合から独立して選択される。

10

【0 2 3 2】

一部の実施形態では、表 3 に列挙される S T M N 2 A O N オリゴヌクレオチドのすべてのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合(スペーサーが存在するとき、結合は、ホスホロチオエート結合であってもよい、またはなくてもよいことを除き)であり、オリゴヌクレオチドの結合型ヌクレオシドのそれぞれは、2'-O-(2-メトキシエチル)(2'-MOE)ヌクレオシドであり、それぞれの「C」は、5-MeCで置換されている。一部の実施形態では、表 3 に列挙される S T M N 2 A O N オリゴヌクレオチドのすべてのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合であり、オリゴヌクレオチドの結合型ヌクレオシドのそれぞれは、2'-O-(2-メトキシエチル)(2'-MOE)ヌクレオシドであり、「C」の全てではないか、または全てが、5-MeCで置換されている。

20

【0 2 3 3】

以下の表 4 は、さらなる例となる S T M N 2 A O N 配列を識別する。

30

【0 2 3 4】

40

50

【表 4】

表 4.さらなる例となる STMN2 AON 配列(表 3 に示される AON に対応するが、ウラシル塩基で置換されたチミン塩基を有する)

配列番号	オリゴヌクレオチド配列(5'→3')
配列番号 923	AAUGUUAAGACAUAUACCAGAGCU
配列番号 928	UUAAAAAUGUUAAGACAUAUACCA
配列番号 933	UAGAUUUAAAAAUGUUAAGACAUAU
配列番号 938	UACCAUAGAUUUAAAAAUGUUAAGA
配列番号 947	UGUAAAGAUUACCAUAGAUUUAAAA
配列番号 1036	AAUCCAAUUAAGAGAGAGUGAUGGG
配列番号 1038	AAAAUCCAAUUAAGAGAGAGUGAUG
配列番号 1042	UUUAAAAAUCCAAUUAAGAGAGAGU
配列番号 1061	CCUGCAAUAUGAAUAUAAUUUUAAA
配列番号 1062	UCCUGCAAUAUGAAUAUAAUUUUAA
配列番号 1063	GUCCUGCAAUAUGAAUAUAAUUUUA
配列番号 1064	AGUCCUGCAAUAUGAAUAUAAUUUU
配列番号 1065	GAGUCCUGCAAUAUGAAUAUAAUUU
配列番号 1077	AGGUCUUCUGCCGAGUCCUGCAAUA
配列番号 1089	CCUUUCUCUCGAAGGUCUUCUGCCG
配列番号 1095	UUUCUACCUUUCUCUCGAAGGUCUU
配列番号 1101	UCUUAUUUUCUACCUUUCUCUCGAA
配列番号 1107	CCAAAUUCUUAUUUUCUACCUUUCU
配列番号 1129	GCACACAUGCUCACACAGAGAGCCA
配列番号 1136	CACACACGCACACAUGCUCACACAG
配列番号 1141	UCUCGCACACACGCACACAUGCUCU
配列番号 1144	CUCUCUCGCACACACGCACACAUGC
配列番号 1272	UGUUUUAAUUUCUUCAGUAUUGCUA
配列番号 1277	UCUUUUGUUUUAUUUCUUCAGUAU
配列番号 1282	AGCAAUCUUUUGUUUUAUUUCUUC
配列番号 1287	GAGACAGCAAUCUUUUGUUUUAUUU
配列番号 1292	AUAUUGAGACAGCAAUCUUUUGUUU

10

20

30

40

【0235】

隠れエクソンを有する STMN2 転写物

一実施形態では、STMN2 AON は、隠れエクソン配列を含む STMN2 転写物、配列番号 1339 として提供される配列を含む STMN2 転写物の領域を標的とする。

【0236】

【化 3 1】

ACTTGTAATATACAGGTATCCCTCCTGGTAAGCTCTGGTATTATGTCTTAACATTT
TTAAATCTATGGTAATCTTTACAAAATATTTTACTTCCGAACCTCATATACCTGGGG
ATTTTATTACTCTGGGAATTATGTGTTCTGCCCCATCACTCTCTCTTAATTGGATTT
TTAAAATTATATTCATATTGCAGGACTCGGCAGAAGACCTTCGAGAGAAAGGTA
GAAAATAAGAATTTGGCTCTCTGTGTGAGCATGTGTGCGTGTGTGCGAGAGAGA
GAGACAGACAGCCTGCCTAAGAAGAAATGAATGTGAATGCGGCTTGTGGCACAG
TTGACAAGGATGATAAATCAATAATGCAAGCTTACTATCATTATGAATAGCAAT
ACTGAAGAAATTTAAAACAAAAGATTGCTGTCTCAATATATCTTATATTTATTATT
TACCAAATTATTCTAAGAGTATTTCTTCC

(配列番号 1339)

10

【0 2 3 7】

STMN2 転写物内の隠れエクソン配列は、配列番号 1 3 4 0 として提供される。

【0 2 3 8】

【化 3 2】

GACTCGGCAGAAGACCTTCGAGAGAAAGGTAGAAAATAAGAATTTGGCTCTCTG
TGTGAGCATGTGTGCGTGTGTGCGAGAGAGAGACAGACAGCCTGCCTAAGAA
GAAATGAATGTGAATGCGGCTTGTGGCACAGTTGACAAGGATGATAAATCAATA
ATGCAAGCTTACTATCATTATGAATAGCAATACTGAAGAAATTTAAAACAAAAG
ATTGCTGTCTC

(配列番号 1340)(出典:NCBI 参照配列:NC_000008.11)

20

【0 2 3 9】

様々な実施形態では、隠れエクソンを有する STMN2 転写物は、配列番号 1 3 3 9 と 9 0 ~ 1 0 0 % の同一性を共有する。様々な実施形態では、隠れエクソンを有する STMN2 転写物は、配列番号 1 3 4 1 と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を共有する。

30

【0 2 4 0】

1 つの実施形態では、隠れエクソンを有する STMN2 転写物は、プレ mRNA STMN2 転写物を含み得る。1 つの実施形態では、隠れエクソンを有する STMN2 転写物は、配列番号 1 3 4 1 として提示される配列を含み得る。

【0 2 4 1】

40

50

【化 3 3 - 1】

AGCTCCTAGGAAGCTTCAGGGCTTAAAGCTCCACTCTACTTGGACTGTACTATCA
GGCCCCCAAATGGGGGAGCCGACAGGGAAGGACTGATTTCCATTTCAAAGT
CATTCTGGTACTTTGTACTCCAGCACCATTGGCCGATCAATATTTAATGCTTGGAG
ATTCTGACTCTGCGGGAGTCATGTCAGGGGACCTTGGGAGCCAATCTGCTTGAAGC
TTCTGAGTGATAATTATTCATGGGCTCCTGCCTCTTGCTCTTCTCTAGCACGGTC
CCACTCTGCAGACTCAGTGCCTTATTAGTCTTCTCTCTCGCTCTCTCCGCTGCTG
TAGCCGGACCCCTTTGCCTTCGCCACTGCTCAGCGTCTGCACATCCCTACAATGGC
TAAACAGCAATGGTAAGGCACTGCGCCTCGTTCTCCGTCGGCTCTACCTGGAGC
CCACCTCTCACCTCCTCTCTTGAGCTCTAGAAGCATTAGAGATATTTTATAAAG
AAAAAGATGTTAATGGTAACACAGGACCAGGAAGGACAGGGCAGTTCTGGGGG
AGGTGGGAGGCGAGAGAAGAGGTCTATGGAAATCTAAAGCGAAGAATTTCTTTT
AAAAGGTAGAAGCGGGTAAGTTGCCCTCCTATGGGTAGAGAATTTATTCTGTTTC
CATATTTAAAATTAGGACTCAATCGTGAGGGGAGGAAGCTACCTTAACTGTTTGC
CTTAAATGGGCTTAAGGGACATTTTGGAAAGTGCTTTATAACGACCTTTTTTTTTT
TTATTTCTTCTCTAGTTTAAAGAAAGAAATAGGAAAGGGGTAAAGGGAAGGTGGG
AGAAAGGAAAAAGAAAATTGCAAAGTCAAAGCGGTCCCATCCCGCTGTTTGAAG
GATGGGTGGAGACGGGGGAGGGGATGGAGAGAACTGGGCACATTTTACGGTAT
TGTCTCGTCGAAGAAACCGCTAGTCCTGGGGTGCGGTGCAGGGAGGTAAGACGG
CGGGGACAGGGTGGGGTAGGACCTCCGCTCCTTTGTTTTAGGGCAAGGGAGG
GGAAGGAGAGAGGAAGTCGCGGAGGGCGTGGAGGGCGCGGGTGGGCAGCTGCA
GGGGCGGGGAAGCGCGCGGCAGGGAGGGGTGGAGGGACAGCGGCTTCGAAGGC
GCTGGGGTGGGGTTTCTTTGTGTGCGGACCAGCGGTCCCGGGGGGAGGCACCTG
CAGCGCTGGGCGCACAATGCGGACAGCCCCACCCAGTGCAGAACCGCGCAGCCC
CGCCCCCGCCCGGTGCTGCATCTTCATTGAAAGGGGGTCCGGTGGGGAGCG
CAGCGTGACACCCAGGAGCCCAACCTGCGGGGACAGCGGCGCCACGCCCCGCG
CTCCCCGCTCCCGACTCCCCGCGCGGCTTCCAAGAGAGACCTGACCACTGACCC
CGCCCTCCCCACGCTGGCCTCATTGTTCTGCTTTTAAAGAGAGATGGGAAAAGTGG
GTTAACATTTTTCTTTTCGGAAGCAAATTACATAGAGTGTTTAGACATAGACACA
GATAAAGGGTTCTTTGAAGACCTTTGATCGTTTTCGGGAAAAGCTTCTAGAACCT
AGACATGTGTATGTATAATAATAGAGATGACATGAAATCGTATATAAAGCAAAA
GAGGTCAAAGTCTTAAGTTAAGCCACGCGAAATTTCCGTTTTGTGGGTGAGACAG
TGCCAAATATCGGCAATTTATAAGCTCAGAGAGACAAGACAGTGGAGACACAG
GATGACCGGAAAAGATTCTGGATTGAGGGCTTCATCCGCAATTGGTCTTGTGCC
TTGAGTGCCACGGTTCTGGCGCTCAGTGGCCCCGGGGTGAAGAGCAGGGTGG
GGCCTGGGGTCTGTGGCAGCTGGAAGCACGTGTCCCCCGGGACTTGTTTGCAG
GATGCGGAGACAGGGAAAGCTGCCGAAAGGACTCCATCTGCGCGGCTCCGCCCT
GCCCTACCTTCCCCGCGGAGCCGGGGAGACCTCAGGCTCCGAGACTGGCGGGGA
AGAGGAATATGGGAGGGGAGTTGAGCTGTATGCAGTCTGGAACCTCTTTTTTTC
AGCCCCGACGTCCACAACGGCCCCGAGCACCCCTTGATGTGCGCAGACCCCCGGC
GTGGCTCTCAGCCCCAGCACCGAGCCCCCTCCAGCCAAGCGGGTGGCTCTGCAG
AAAAGCTGGCTCGAGCCCCGCGGCCACAAAAGGCGCGGCCCCACCCAGCCC
GGGCGCGAGACCCAGAGGTGACCCCTTCCAGGGATTGAGGGAGGGCTGTCT
CTTCTCGCCACCCACGCTCCGCGGAGCTCGGGGCTTTTTTCCCCAGCCCAAG
CCCCCGCCACCTCTGTTCTCTATGATTTTCCAGAATGGAGACCCCGCGAGGG
GCTTCTCTAAGGGAGACCCTCGCTCCTCCAGCGGGGCGCGGCTCGGCCCCACCCC
TCCAGCTGAGGCCAGAGCCGCCTACCGCTGGCCGGGTGGGGGCGCACGTGGC
GACTGGGTGTGTGGAGCGCAGCCAGCCCTGCAGAGCCCCGCGCCGCGCCCTGCG
CTCCCTCCCCGAGTTGGGCGCTCGCCCCGCGGTGCAGCCGGGGAGACCGGTT
TCTGCGCAGTGTCTGAGCTACCCCGCTTCCACAATTCGCAGTTCACCTCGCAC

10

20

30

40

【0 2 4 2】

【化 3 3 - 2】

GTCCAGAAAGGTTCTGAGAATGGGTGGTGGGGGCGATCTCGCCTCGCTTTCTGCA
 CCCCTCAGAAAGGTTTCCGCTGCAGGCTAGTGGCTGCAAACATCGTCATCATC
 AGTATTATTATCATTTCAAATCGTTGTTATTATTTAATGATTTCAGTAGCCTTGTTT
 GTTCTCATTTGTTCAAAAGGGACGTGGATTGCTCTTGGTTAAGGATTAAACCTTG
 TCGTTTCGCTTTGCTTCCTCCTAATTGCCCTCATCCCTTTCCCCACAAAAAGGTA
 AATTTGTCTCCAGTTGTTCAATTTAAGTTATAAAGCAAATATATTTTGTCTCCTG
 CCAGGATTATGTATGTTTCATGTGGCTAAGATACATGTGCAAGTGCTTGCTAAGAG
 CAGGGTTTGTGTGCCAACGATTGCTGGAAAATTCTCTGCAAAGAATTGTTTGTGG
 CTGCAATGGGTGAGAATACACATATATAATTGAGATGATCTTCAACATAAGGTTA
 TATCTATAAAATATATAAAATATAGTTTATGCACAAAATTTTAAGTTTTTCCCCTGA
 AACTGTTCTTCCAAGTCTGATTCTTGATACAGCCTCAATCCTACACAGATACAT
 GGATCGTGAAATGGTAGCCGCCATCCAAATAAAAAATCCCACCCCAAATATGACA
 AACGCAAGCATCCTTTCTGGCCATAATTTAACTGCATTTGCAAATCATGAAAAAA
 ACACTACTTCTGCAGTATTAAAATAATAGATTTTGAAATTAATTCCAATTTCAA
 GATAATTAATTATCAGGGCGAGTGCTTTTTCTCTGATTCAATTAACAATTATGTAT
 TCAGCATGATTGTAAGAGGTGCATATAATATCCCATTAATCTTTCTAATGAAGT
 GGGCACCTTCTGAATGGATATATAAGTAACTAGAAATGAAAAGCTGAGGATTG
 GTCAGAAATTCAGGATAAACTGAAAGAAATGGCAGTAGTTTATCAATTAATCTC
 ATGATTTTAGTTTATACCAGGTGAGTAAGCTGAGCCTGCAATAAACACTCTCTGT
 CCCAGTGTAACACGTCGCGAGTAGCTAGAATGATAGGATAAATTAATAGACCTT
 GTGGTGTGTTGCTATGCACGTTAAAATTCTCTGAGAGAAAGTATATTTTAAATG
 ATAATTAAGATTGGACATTTGTGCTATTAATACTACAACCTTAGTCAAAATTC
 CAATGGTTTTTTTTTACAATAATGTGACTTACAGATTTGTAGTAAATTTCTATT
 CTAAAAGAGAAATGAGTGTTTTTATTGTTACAGCTATTACCTCATTAATTTTTTA
 GCAAACTTTTATTGTTGCATTGAAAGCAGTTTTAATTACTTTGGGTTTTATTTT
 CAAATTAATAATGGATAGATGGTGGAATAAGCATTAAATCATTTGGCACAATATG
 ACTTCCATCAAATAGCTCATTTCTCAGTGATTAAAAAATGCTACAAGAGGCTACAA
 TTTACTCAGATTCAGGAAATGTCCTTTTCAGAGTGCCATAAGGCTGATTCAATAA
 TAAAAAGTTTTCTTCCCTATAATTTAAGATCAAAATAGTTACTTAGTTCTGTGAAT
 ACCTAGCAGTAGCTATCAAACAGAAATTTAAAGTTAAATCTGTACAACCTAACAA
 GAAGTGGAGGATGAATCGATACATATTGAATGGAAGACTTTGTCAATTGATAAAT
 CAGGCCATCTTTAGGAAAATTCGGGATTTATCAATCACCATTATTTTTTACTTCAA
 CTGAGTGTGACTGATCACATGCTCAGGCTACCTTGGTAGCTCATTGCTCACAGGA
 GGCTGAAAAAAGCTGGCCTCCGAGCAGGAGGAAGCTCAGAGCACAAACCTAGG
 CCTGGGCGTGGCCACTGGGAGCTGCTGATAGCGAACCCAGCTCACACCAGTTTC
 TTTTTTGGTTCGTGGGAAGAAAAACACATATTATCCTGTTGTCACAAGATCTGTGA
 CCTTATATGAAAAAATGCTAGAAATTTTTTCATTAAAAAAGAAAATACTGAACCTAG
 CCAGTGACCCAGATGTTTTCAGAACCTAGACTGGTTCTGTCCATTGGAAAACTC
 GGTGTCTGCATTAACTTTTACCACACTAGAGGGCAATCATGTTCTCTAAAAAAG
 CAGATGATTGATGTAAACCTAGTTCCAAATATTAAGTGTAAATAAAATCTTTCT
 TTTACCAGGAACATTCAAGTGTTTATTCAATAAGCTGATGCCATGCTTTACCCTA
 GTGGATGAACAGAGCTTGTACAATTTTCAAGGAGACAGGATGAAATGAGTGGTC
 ATAATCTGAAAGTAGATACACGCCCTGGTTAATTATCCCTGATGGTTTTACTTCT
 CAGTTTTATTACATTGTTATTATAATACCATTATGTTACTTCTGAGATTTTGTAGT
 GGATAAATAGTAGAAAAATGTCAGTAGTAATAGCAAAGTTATTTAGCAGCCGAA
 TATTTTAATGCTTAAAAATAAAGGAATAAATTAAGAAAATCATTGTTTACTTCT
 TCATCGATTGAAATGTGCCCCCTGTTTCAGAGCACATCTGAATATCAGAGTCTCCA
 CCTGCAGAGAACATGCAGCTTAGCGAGTAAAAACAGGCAGGTATGTGATACTGAG
 GAGGTGTACCAAAAACTGACTGCTGTTATTTTTCCCATCTTCTAAGTCTGTCTTTC
 TTTTCCATTTAAAGATACCTTTTTTAAATCTAATCCAATGTGATTTCATCTAGTTT

10

20

30

40

【0 2 4 3】

50

【化 3 3 - 3】

TATCAGATTTCACAATTATTGAGCATCTCCTTGTAGTGGTTTTCTGTTTATTAGA
 AAATCGATGTTAATTTTAAACGAAGTAAGAAGAAATATATAAGTATAAACTAATTT
 TGGGTATCATCAAAAGTGGATTTTTTAAATATGCATTGATAGAATTATTTTTTGAT
 TACATTTTATGTAATTCATCCAGCTATAAAATATTTAATAGTGTCATATTACTG
 TGTTCCCTCAAACTTTGATGTGCATATGAATTACCTTTGATTTTCATTAATAATGCAA
 ATTCTGATTCAATACATCTGGCTTGAGGCAGACATTCTGTCTTCCGAACAAGCTC
 CCAGATGATGCTGATTCTGACCACTAAACACATCAGTTTATAGGGATATTAAGTTG
 TAATATACAGGTATCCCTCCTGGTAAGCTCTGGTATTATGTCTTAACATTTTTTAAA
 TCTATGGTAATCTTTACAAAATATTTTACTTCCGAACCTCATATACCTGGGGATTTT
 ATTACTCTGGGAATTATGTGTTCTGCCCCATCACTCTCTCTTAATTGGATTTTTAA
 AATTATATTCATATTGCAGGACTCGGCAGAAGACCTTCGAGAGAAAGGTAGAAA
 ATAAGAATTTGGCTCTCTGTGTGAGCATGTGTGCGTGTGTGCGAGAGAGAGAGA
 CAGACAGCCTGCCTAAGAAGAAATGAATGTGAATGCGGCTTGTGGCACAGTTGA
 CAAGGATGATAAATCAATAATGCAAGCTTACTATCATTATGAATAGCAATACTG
 AAGAAATTAACAAACAAAGATTGCTGTCTCAATATATCTTATATTTATTATTACC
 AAATTATTCTAAGAGTATTTCTTCCTGAATACCATGTGAGAAAATTCTTAAGAAT
 TTATTGAGTATGACTGTATATTTGAAAAGAGTGTTTTCTTCTGCTTATCTAAGCCA
 ATAAAGGATCTTCATTATTCAATTCTAACTTTCTAAGGAAGTCAACCTACAGATC
 AGAAAGAGGATCTTCAAGGAATAGCATCAAAGACATAGTCAGGTCTCCCATGCA
 GTGACTGGCTGACCATGCAGCCATTACCACCTTTCTGGAAATATTATGCTGCAAA
 AATGATACAATACACGAAATATCTCAAATTAATAAATAAATAACATTTCCCAAATA
 GGGCACTAAAAACATGATCCCAAATAAAACTAGCTTCAGGGTTTGCAGAATATA
 CTGTTACTCAACACAAAGTTGGACTAAGTCTCAAAGTTAGCCATTAGTTGTTGT
 TAACAGTTTCATTTAGGGTCTCTCAGAAGCTGGGAACTTTCCATTTTTTGCAATTT
 CTTGTACATTGAAGGAAAGGAAGACACACTTAAGACAGCATTACAAAAGTAATT
 CATGTTTTAAATGTTTTAATTCTGGCAGTCGGGCAGGGCTCTCTGTATAACCTCATT
 TGGAGATGACAAAATCTAAACTTGAGGGCCTCGAGCCAATAAGTCTTCCTATTT
 CTTTACTCAAAACATTTTCCCGCAATGGTGCTTTCTTTCAACTGTTTTCTGGTGTAT
 TCATAAATTCAGATTCTCTATGGGAAGTAACTTTTATTGATTGATTAAACCCTTG
 TATAGCACATATAACATGCAAGGCATTGTTCTAAGAACTTTCCACATATTAAGTG
 TGTTAATCACTTAATAATCCTAAGTAGGTTCTATTACAGATATGGAACTGAGGC
 ACAGAAAGTTGAAGTATCTTACTCAAGGTCACACAGTTAGTCAGATCCAGAATTT
 GGGCCAGGCCATCTGGCTTCGGAATCCATCTTTACCGATTGCTGCTAGTCTCA
 TATCTGTTCCATGTTAGAGGTGAGCTCCCATTGCAGAGGTCACACCTGTGATATC
 ACCATTTTATTTAAACAGACCAGAGATGGTCTTCTCCTTTCTGATCACAGACTCAC
 CTTGAAGAGAAAACTTCCAAATTGATGCCTAGTTTAAATAGCTTACCTGGGGC
 TTATTCAAATAATTGCCATGATTTAGGCTTTGGGAGAAAGAGAGCTATGAGGCCG
 TGTGGGTTGTAACGTATGAGACACATGGCGTTCTGCAGGCTCAGCACAGCATCGA
 TTTCTGGTGGGAACACACTCTGATGACCAGTTCAGAAATAACATTGACTTAATC
 TCCTCAGTCCCATCATGGTTAGCACATTTCAAAATGCCTCCTTAACTACTTCCATA
 GGCCAGAGATATTTAGTTTAAACATTTTGTGAATAAAATAAATTTACACATTCA
 CATTTAATATAACTATTAGATGTTATTTCAAGATTCTTTCATATTACCATCAAAG
 CAGGCAGGCAGGCAGGAGAGAACTGTAGGAAGGTTTGAATCCCTTGTGAAACA
 TTTTAAATTATCTTTAATAAAGGAATCAGGCCCTGTCAATTTGTCAAGGAGACATT
 TGCAGTAGTAAAGCTTGTTGTTTATAATATCCATTTTATTAGTCATGATTAAAGAT
 AACATTTGTGTACATTTGTTCTCACAAAACACTTTTATATGAGTGTAAGGTTAAT
 TAATGCATTTAGCCATCATTTTGTGCTGGTCATGTGGAAATATAGCTTCTTTAGGAA
 TTGTACTTAGAGTAGGAGCCACATATTATACTATAAAACCATAACAAAAATATTT
 TAAGTTTGTCTCACTTGTGTTGACCTCCAGAGTAAATATTTAATACTCTGGAA
 AGTTATGGGTTTCAAAATTTATTTTATGGCAAGAAATAGATAATTACAGTTCTCA

10

20

30

40

【0 2 4 4】

50

【化 3 3 - 4】

TAGAGCACATTTAAAATAATTTATTTTTATAGGGCAAAAATATTGCCTAGGACTG
 AATGATTTTTTTTTTTTACAAAGATTGTAAAGCAACGCCTGCAAGAGTGCCCAT
 TAGCAGTTATTCTTCTGGAATAATTGTATTTTGGATGTTGGAGTTCGCACATTAAAC
 CATTAGTACAAGTACCCAATATAACAATAGATCATCAGGATAATAAATCTGTCCA
 TCTTTTAGTTGTATGTCTTTATATCAGGATAAAGAGAATTGAGTGAAATTTATCTA
 AACCTAGTCCCACAAATACTTTTACAAGAGAGCATGTTAAAGTGTAATTTAAATT
 TTTATTAGCATTTCTACTCTGTCTTTGGAAGTTTTTTTTTCCCTTATGAAATGCAGCCAT
 AAAGTTTAACTTCCATTAAACAAAGCTGCTCACAGTAAACCTATTATAATAATAGT
 TTCCCAGTTTGGGCTTCCTAGTGAGGAGCAACCTAACTCACACGAAACAACCCCA
 ACTTATAATATATTGACTGTTACAAAACCTGAGACCAGAAAAATCCCATCAAGATGG
 TACTGTTATCATTTCAGACTCTCGGGAAGAACATTAATCATCTCAGGCACTTTTA
 GGATAGACTTATTGCAGCCTCCCTGGGAACCTCTGCTTCAGAACATAATTATTTTT
 ATTAATGCAGAGTTACTTTTTATTTCCAACAAAAATATCTATTGTTATTATTTAAG
 TCTTACAGCTTTATCTGAGAAATTCCAATTAGCACCTTCTCATAATAAATATTCA
 AACACATGAAAAATTACCAAGTTGTTCTAGTCTTTAATGACATATTACATGAT
 CCTGCACTCTTGTCACTTTAAAAATTATCTTTTTATTATATTTCTGATGATTTTTTT
 CTTATATAGTTTTTTAAAAGGAGCAGGCAAGCATAGAAGACTAAAAAATGTTCA
 AAAGAAAAATTAATCGCATGATCTATCTATATGGGACCTTGTCTTTTTAGAAA
 ACATTACCTGCTTCATCCTTTGAATCTTCATATAATCCCTCTGAGATGGGCATA
 CTATACAAGTTGTCTTATTTAAAGATTGGTAAATTTAAGCTCAAATAATTTATTCA
 GTGGCAAGCCTCAGAGGCAGACTCGGAACACAGGTCTAATATATATTATATATAT
 ATTATAACATATAATATATATATTACATATAATAAAGTTGIGTATATTATTTACCT
 ATCAAAATATTTATATGTAATATATAAATATGTTATATATCATGTATGTGCCTATT
 TCATACATATATACACATTCATGCAAAATAAGGTTTAGCACTCCCTCCACTGTCC
 TGTAATAAAACATGCACAGTGAGAATAGTCATACACGAGGCATATTTGTCTTCAG
 TTTAAAGTCATTGATAGTCAGTGTCACTAACTAAAGTAAAAATAGATTGGAGCACC
 AACTTTGTTCTGAAGCCTGTGCCAGGTATTATGAGAACAAAAATAAAAAATGTTCC
 TCACCCTTGGTGGATTTAGTCTTTTGCAGAAAAAAGATCCTGTACATGTCAGAA
 AGTTCAATAGTAATAATGGTAATTTATAACTATAAATGGAAGTCACCATCTCACA
 ATTTACCATCTTAACAATTTTGTAAACTGCCCTACAATATTACAAGATAGTAC
 ATAATGATACACTAGTAACATCAACTAGGAAGTACCAAGATCCACCAAAAGGCT
 GAAAAATTTAAATATTAATGAGTCCATCAACCAATCTGGCCAGAGAATTCTTTA
 ATTAAGATGCTTCCCAATTTTACTGAGAATCAGCAGCGTTTGAGGAGCTAGCCT
 CCACCCCCAGAGGTTCTCACTCTATTAGGTCTGAAGCAGGTCCCATGGATTGCA
 TTTCTAACAAGCTCCCAGGTGGTGTGATGAGGCTGATTGAGAACCACACTTGGA
 GTAGACCTAAAACAGCAGTGACCTGTAGGGTCCCCAAGCAGCAGGCCAGGACAG
 CATGTGAGTTACGTCTCTGTGGAGCTCTGCAACAAGGCGTCAAGAGGTCAGAGT
 CTAAGTCCCCATCAGCTCTGCCCTTCTCCACCAGTGCTGCTGGTGTGCTGCATGGAA
 GGAAGAGCCCAGAAGGGATTCTGAGTTTCAGTCTTTACTCTTGCTGACGCACCTT
 GGTCAGGTCAATTTTCTGTTTGTTCCTCTAATTCAGCATCTGTAAAAATAGCCATG
 TGAAGTGCCTTGTCCATATCAGAGGGTCTTTTTCAGACTCAAGGAAAAAAGCGTG
 AAAGTGATTAGTGTCTGTCAAGTAGTATATAAATGCAAGAAGTTGAGTTTTTAA
 TTGTCATTAGATATAAATACCCATGTGCATGCATTTAGAATGAGTAAAGAGGGAA
 CAAGGAGCGCAATCAAAAACCTGCGTCATTTGCTTTTTGAAAAATACTTTCTATGT
 AATGAAAAGTGAAATAAAATGTTAATTGAGTCCCTCTGACAACAGCATCAGACG
 TTTTGCAGTTCCTGTGATTAGAACCCACCTGGCCAGCCCTTCTTCCTCTAAAGAA
 GAGCCTTCTTCTTCTTAAATGAAGGTTGGCTCAGAAGAAGCAATTAACCTCATTCA
 ACGTTTTGTTACAGTCAATCCACATCCAACCTTTTCCCCAACTCAATCTGCTTTAAG
 GGAAGGATGGTAAGTGGTGGCCCAAGATGGCAACCATCAAGCTTAGAGAATCTC
 TAGAAGCAGGGGTGTCCCCAGCAAGTAGACACTGAAAAATATGAGAGGGCTGATA

10

20

30

40

【0 2 4 5】

50

【化 3 3 - 5】

AGCCAGAGATAAAACTCAGTACTTACTTTGCTTCTAGTCCATGTCTACCCCTTTCT
 TGGCACCACCTTGACACTACCCTCTGAGTCCACCTTCCTGAGATGGTACAAACTC
 TGCTTAGACAAAGCAGCCCATGTCCAAAGGTGTTAGGGCTCAGTTTAAAGCTGCC
 TTCAAAGTTAAACAGAAGTGTAAGTTCTGTGCAATTAATAAATAATCAGCTTG
 TCTTGGAAC TCAAACGAATGTAAATCCTATGAAATTAATAAAGCAGTACCACA
 AGTTACCCCAAAAGTCCTTAGGT CAGTAACTGTTCTGTACAGGTAAGAGAGAG
 CATGGATTAGAGGTGGGCGTGGGTATCCAGTGGACATGGTTTTGAACCATGCTCC
 ACTACTACTCACTATCTGAGAATTCTTAAATTTATTAATCAITTTCTATATTATAAT
 TTTCTCAGTTATGAAATGGGAAAACAATACCTAAATCACATGGTTGTAAAGTAAG
 CAATTGATTGTTAAGCATTTGGTCATCAAAAATATTAATCCCCCTCCCTGATTCCC
 TAGATAAATGATGAAAATACTAAATAAAAAATAATAAAATTTAAAGTGAACATC
 TCAATTTCTTATACTTTGTTAATTTCTACATGTATTACAAATCTACTAGAAATTACT
 TGGAATTGAGGAAATGATTACTGCTTAATAATTCTTTGTGGTAGAGGGAGAGTTG
 GTATCATATTTATGAGACAGCAGCCAATATAGTATATCTCAAAGGAAAAAATCC
 ATTCTACATAATGCCAGAATTTAATAGTTAAGCATTTTATCTAGGTACACAGCACA
 ATAAGCAAGATGGATAATTAATAAATAAAGTATATTTCTCTTGACATATATTTCTCA
 TTTTCATGTTTCCCTATCATATTTTATATCTTACCTTACTTCAAATACATATATACCT
 TCAATAAAACTGAGCCTTCTTGCTTACCCAGGAAGTTTCATCATT CAGTAGAAAT
 AAAAGATGACTTTAGAAATATTAATAACAAAAATCTACACTGAGGTCTTTTGAA
 TGCAGGAAAAAGAATTATATCACACACACGTACACGCACGCATGCATACACA
 CACACAGAACCTCTCGTTCTTTCTTAACATCTTATCAATCCATCAGTTTCACTCCC
 ACTCCGTATCACCTGACTGTGCACAATATCTCATTGCCACCTCCCAGTCTTCTCCC
 TGCCTGGCACCCTCCTGCTCTCCTGCTTCCACTTTAAACACCCTTCCTTCAGCTAG
 GTCTTTTCTTTTCAGGGATCCTCCCGTTGCTTTCTTATCTGGATCAATTTAGCCTTCC
 TCTTCTCCACCCATTAGTGGATAAGCACGACAAAGACACTAGAGTCAAATAATAC
 AAACAGAATATACCTTAGATGAGTATGGTGATGAAAAGGATATGGATACTTAGA
 GTTTAGCACTATTCTCTCAGCCACTCAGGAAAGCAACGCCTTTACAATCAATAGT
 GTTTCAGGTACCAATCAATAATCTGTTATTGCTATTTTAAATCTATAAGGTATC
 AGTAAATGTAAATTAAGTACGAAACAAAGATATCTTGTGAAATCAAATTAGTATT
 CATCCAGCAACTGAGTACAAAGGTTAAGGGAGGATAACTACCAATACCAAAC
 ATTTTAAAGCATTTTGTGTTTGCCTCCTAAATATCAAATCATGTAAATGTGTGGTACA
 TAAATTAGGAATTATATTTATGACATAGCTGCAGACATATTAAGAGAAATATGTG
 CTTATATTTACAAGTATAGTACAGTTCTTTTTCATATTAGATACTGTTGATGATAA
 TCTGCATATAAAAAATGCTCAATATTTTTTTCACATTTATAAGCCATAAAATACAGC
 TAATAAAATGTGTTTCTACTTTCTCATAAAACATGGAATAGTGACAAACAAGGAGC
 TTTATATGAAAGCACCATTACAATTTAACTCTCACAAGGTCATAATATATTGCA
 CTAAGCAGGAGAGTT CAGCTTATTTAAAAAATAAACTCTAATGAGGTTCT
 TGGAATGCAGAGCCAAAGCATAAAGATGGAATAAAAGAATTGCATGTCTTCTG
 AACTGACTTGTTGATGATTTTTTAAAAAAGGTTTTGTGTCTTCTGACTTGTTG
 ATGATTTTTTAAAAAACGTTTTGTGGTAGAACAAATAAGGTAAATGAAATTCAG
 TATTTAGGATGAAAAGTTTTCTAATTT CAGGAACAACATTGAAGAAATATTGAA
 CTAAGCAGCTTTGAAAGAATCAGATTCCATTTGTTGAAATTTTTCTGAGAATGAA
 TTTTTTAAAGACAGTGTACACAGTTGCAGTGTGATTGGTTATGGATTGTGGCAA
 GCTATATTACAACCTTACCCAAGAAATAAGGAGGCTGGGCGTGGTGGCTCACACC
 TGTAATCCCAGCACTTTGGGTGGCCGAGGCGGGCGGATCACGAGGTCAGGAGAT
 CGAGACCATCCTGGCTAACACGGTGAAACCCCGTCTCTACTAAAAGTACAAAAA
 ATTAGCCGGGTGTGGTGGCGGGTGCCTGTAGTCCCAGCTACTCGGGAGGCTGAG
 GCAGGAGAATGGCGTGAATCCGGGAGGGGGAGTTTGCAGTGAGCCGAGATTGTA
 CCACTGCACTCCAGCCTGGGCGACAGAGCGAGACTCCGTCTCAAAAAAAAAAAAA
 AAAAAAAAAAAAAAGAAAGAAAGAAAGAAAGGAAAAAAGTCACTTGAAAAGAAT

10

20

30

40

【0 2 4 6】

50

【化 3 3 - 6】

ACTGGACTTTGTGTCCAGCTTGCATAGCTGAAAAGAATAAAAAACCTGTCCACTTA
 AACTCATTGCAAAAAGAAGATGTCACTCCTACAAATAGCAAAAGAGTCATGAAAT
 TATTCTATCCAGAAAAGTATACATTTTCATCCCTTTGGATAAAATTTTAGAAGTGAA
 CTATGAATACATACGGTGAGGATAGCCAGCTAAGAAGTCAAGAAGGATTTCTCA
 AATTTGCTGCTCAGAAAAGATCATACTCTCCACAAAACAAATAATAGCAGGCTTTC
 CAAGTCAACCTTGAATCCAGCTTTCCCTTATCTTTCCCTTCTGTGAACTTTCTACTA
 GTTACTATCTAACAATGAATTTGACGATAGCCACATACCATCTTATAGCAATAT
 TTGTTATCATATCCCTTGTTATTTATCATTACCTGCTCTGCTTGAGCCAGCTACA
 AGTCACATGTCCACCGCACTTTTTCCTGTTTGATTTTTTACAGCACTTTGAGACAT
 GTCTCATTATTCTACTTGACAGGAAAGAAGCCATGGAAAGTTGAGTGACTTGCT
 CCTGATCACAAATGCTGGCCAAGGAAGAGTCGAGTTTCAAATCTAATGATCTTTC
 CACTGCACTCTAGATTCCCTCATTTTGAAGTATTTTTTTATTTTTTGCCTATAGACT
 TTTTCCACATTTTGAAGTGTTTTTTATTTTTTGCCTATAGACTTTTCTCTTATAC
 CCAACTATATTGATGACTTCTTTTAGGCTAGAACTTGTTTCACTTACTTTCCTT
 TCTTCAGATTGCTGCAATATTGGCCAACATGTATTGGGTACTIONTACTGAGTCAAGT
 ACTGTGATTGTGCCAAGTATCTTATAGGAGGATTATCATCCTCATTTTTTACAGGTG
 AGAAAGGAAAGGAGGTAAAGTCACACACAGCCAACAAAAATGGTAGCACCAGG
 ATTTGAAACAAATCAGTCTGACCCAAGTTGACTTTGTAAACCACTGTATGCACAG
 TCTTCTTAGACATAGTAAGAGCTCTAATTGTGTTTGGTGATTGTATTATGACA
 AAGTAAGTAAGGGAAGCAGGAGAATTATAAGAAATAAGGCTCCACAACACTTG
 GCTATAGCAAAGCCCCCTTAAACTTCAAAAAGGTCACCCAAGAAATAAAGATCAG
 GCTGGGAGCAGTGGCTCACGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCGAGGTGG
 GTGGATCACCTGAGTTCAGGAGTTCGAGACCAGCCTGGACAACATGGTGAAACC
 CTGTCTCTACTAAAAATACAAAAATTAGCTGGATGTGGTGGTTGCCGCTGTAAAT
 CCCAGCTACTTGGGAGGCTGAGGCAGGGAATCGCTTGAACCCAGGAGGTGGA
 GGTTGCAGTGAGCCGAGATCATGCCACTGCACTCCAGCCTGGGCAACAAGAGCA
 AAAAACTCTGACTCAAAAAATAAATAAATCAATCAATAAAATAAAGATCAATT
 TGGAGAAATTAATGCTTATTAATAAGCAATGTCTTGACACAGCACTTCAGTTTCTC
 AATACATTACCTAACTCAATCCTTACAACAACACCCTATCCCCATTTTGTGGATA
 AATAAACTCATGTTTCAGAAGGTTGAATAAATTATCTAAGGTTAATAGTTCCTGAC
 CTAGAGCTCAAATCTTCAGTTTCTATCATATTCTTGCCCTTACCCTGGGGTAGCTA
 ACATTCACTCACTAGTATTGGAGCTAAAATAAGGGAGAGAACATATAAATGAAT
 ACAAAGGAGACATTACCTGCCTTCTCTTTCTCCTTACATAGAGAAGGTTGATTA
 TCTGCTATTGTGAAGTTTGCCTTTTGAAGGATAGAAATGAGAAGACTTCTTAA
 TTTTGCCTCTACGCCAAGAAATTAGAGTGGTACCACCAGTAGTTCATTTTCAAA
 CTATCACTGTAGCTAAAGCTATGTGGTAAGGGCCAAGGAAAAAGAAGTATCTTG
 CACTTCAAAATGCACTGAAATACCAGTCAGTAGCATAATATAAAGGAATTTAGT
 GGAGAGAAGAGTTGACCTCAATCTGGCTCCAACATCTCGGCTCTTAACCCCTACC
 CTACACTTGTCTTCATGGGGAAGCTAATTGGGCCACTGGAAGATTGAGCAGCTA
 CCATTTGCAGCTGAGGGACAGCCCCCTCCCTGCTTAGCAACCAATGGATATGCATT
 TATGGAACACCTGCTAACTGCGACACACACTCCTATGTATGAGGGAAAATACAA
 AAAATGTTAAAGGAGATGCCTTCCCTTGCCCTCAGGAACTTAAGTATAGTTGCA
 AAGAAATGATTAGCAGCAAAACGAAACCATGGAGAAGTAAGGGCTAAGGTCTGTG
 AAACAAGCCTAGAAAATAACCTTGTCTTGAACCAACAAAAAGAAAGAAAGA
 AAGAAAAGAACTCCAAGGCCCTTGTGAAGGAAACCATTAAGTTTGTCTCACTTC
 TGTGTTTAGGAAGACACAAACCCAGTCTTAATGAACCTCAAGGCCACAACACTG
 GAGACATTTAGGAATTGTCACCACATTCTAATGTATATATCCTCTGTTTGGCCCTT
 CCTATTAATATTTTGTAAAATTTTTGAAGATATGAGCAATGTTTAAAACCATGAA
 TCCCCCTTTTTTATAAGTAATATTTAGGCTGAATAAACAAGAGAAAATAGGACA
 TAAAGGGGAGCCAACGTGTGCCTTCATTTATAATGTATTCCCAAGTTGTGAGTTT

10

20

30

40

【0 2 4 7】

50

【化 3 3 - 7】

GGTTTATCAGCAATTTATCATGCCAAATTCCAAGTCATATTTATCTATGCAGATCA
AACACTTGATTCTATTTTTGCCTTAATTTTTTATTGGGTATGTTTATGACCAAGTC
ATATGGTATTTTCTGTGACAGATAAAATGCACAGGTTATTCCAATCTGGCTCAGC
CAGTCATAGCAACATGTAGTCCTTCTCATGTCTTAAGAATGAGTATCAAGAATTC
AAAGGGAGTTCCAGATGGCATCCAAAAAGCTTACAGTTTATGCATCACTTATTCT
AACAGTAGAAAAAGAATATTTGAAGCCAAAAATAGACCTTGCATGTAGCATGTG
GAAGAGTAGAAATTGCCCTGATAGTTAAACAATTTGAAATTCAAGACATTAATTT
CTTTATGAAGCATTGTGCATCATAGGTAATATTTTATGCCTATCATATATATAC
TTATTATGAAATACAAAGAAATTATTCATTCTATCTAAGACTTTGTATCCTTTACC
AATATCTCTCCATTCTCCACCTCCACCCTAGCCCCTGGAAACCACCCTTCTACTC
TCTGCTTCTATGAGTTCCTTTTTAGTGAGATCATGCAGTATTTGTCTTCTGTTCT
GTCTTATTTCACTTGACATAATGTCCTTCAGGCTTATCCATGTTGTCACAAATGAC
AGAATTTCTTCTTAAGGCTGAATAGTATTCCATTGTGTGTATGTAGCACATTTTC
TTTATTAATTCATTGTGTGATGGATACTCATATTGATTCCATATCTTGGGTCTGT
GAATAATGATGCAGTGAACATAGGAGTGCAGATATCTTTTGACATACTGATTCC
ACTTTGATGGGATATATACCCAGTAGTGGGACTGCTGGATCATCTAGTAGTTTAA
TTTTTTTTTATTTTTTATTTTTTTTATTTTGAGACAGAGCCTTGCTATGTCGCCCAG
GCTGGAGTACAGTGGTGCCATCTAGGCTCACTGCAATCTCTGCCTCCTGGGTTC
AGCAATTTCTGCCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGATTACAGGCACGCACCACC
ATGCCCGCTAAATTTTGTATGTTTAGTAGAGACGGGGTTTACCATTGTCTCGAA
CTCCTGTCTTCAAGTGATCCGTCACCTCAGACTCCCAAAGTGCTGCGATTACAG
GTGTGAGCCACCACGCCTGGCCTAGTAGTTCGTTTTTTAATTTTTTGAGGAGCCTC
CATACTGCTTTCCATAATGGCTCTAGGAATTTACATTCCACCAGCAGTGCACAAG
GATTGCTTTTCTCCACATTCTGGCTAACCAGTCTCCTGTCTTTTGAGAACAGACA
TTTCAACACGIGTGAGATAATATCTCATTGTGGTTTTGATTTGCATTTCCCTGATG
ATTAGTGATCTTGTGCCTTTTTTATATAACTGCTGGACATTAATATGCCTTCCTT
TGAGAACTGTGTATACAGGAGAAAAATAATCACTTCTCAGAGGAGCTTTCATTTC
AAATATCCGGGAAAAAAATAGAAAAATGGAAAAATTTATCCTAGAGTAAGTTGT
CTTTTATATTTTGACCTGTGTTGTGACATAAACTGGATGATACAAAACCTGGAATG
CAAAGGCTTTAGGAGGATTACTTACTTACTTGTATATTGCTTTAGGTTGTTTGCAG
AAAATTATACTAATTGAAGTTCAGGCTATGATGTGATAAAATCTATGTCAGGAGA
TGAGTCTCATGCAAGTTTGAGGAAGTGACATTTGAGTTTCAAAAACAAAAAAG
CAATTTTCAATGTCTATCTAGGTTAACCCTAAAGATTCTTTCACCCTATTTAGC
TGCTCTAAGATGGATGCTGAGGATAATTACACTGTAGAACAATAGGACGATGC
TTCACACTCACCTCACAGGCTCTGTTATTCCACATACTGCCAGAGATACTCCAA
AATAAAATCACTGCAACATCAGGCAGTTATAAACCTCAACGGTATTATTTTCTAT
TTATATACAGTATATTTTATATTTTACAAGTATAAAATAGAATATATTTATTCTAT
TCTCTTTGACACAAAGTGACCATAAGACATATTACTTAAGTATGACTAGCAAAGT
CATGGGGCTTGTCAATCAGGAGGAACTCTTAACCTAAGTTCAGTTTTTGTTCAC
TGCACCATTTACATAAGCCAACTAATGCTTCACACTGTGCAAAACAATGCACAG
TGTTGTGAATGAATGCCTAAAATAAACTCTAATGAGTGGGGTTTGAAAAATGC
AACTTTAGAAAACTGTTGAGAAAAATGTTGCACACTGCGCATTTTACAAAATTTTCG
TTGAAGGACACTGGATATTTCTTTTAGGATTATGGAGGGAAGCAAAATTTTGGCT
CCTACATGCAGTTTTTGTGGCCTTTCCTGAAATAGTCATCTCCCATTAATTATTT
AGATATCATTTCATTCTAAGACAACATTTAGGGAGACTGCCTTAAGTACAATTT
GTACACTACCCAGATAAGAATTCTTTTGGTGAAACATCGATAAAATATTACTTGG
CAGTAACACCAAGTTAAAAATATTTGTTTACAGTCGACGTTAATAACTATTATAG
ATAAAGTGAATTTTATAAGACATACTCAGATCTAAAACAGCAATATGGAGCTCTT
CAAATCCATTGAACTTCATACCAGCCTACGGAAGTAGAGGTTTTTATGCAAACCT
CTTCAAGAAATATGCTCTGAACTTTTAATTCCTTAGATTGATAGAGGAATTAAAT

10

20

30

40

【0 2 4 8】

【化 3 3 - 8】

CATGATATAACTAATAGGTTTGTGGTACAAATTGCTGCTGCTTAATCTGACTCTGT
 GTCTTCCCAGTGTTCTATATGAATTAGATATTCCATTATCTAAAGACAATCAACCC
 CATCCACGGTGATAGCTCTAGGACTCCCTTTGAGTTCATTAAATCTGTATTCTCA
 GTCTCCAAACTTCTGGTTAATTCAAACAGAAAAGTCAACTGGCCCATGAACTAAA
 ATAAAGTCATCTGAATTTTTTTTTTATTTTGCAGTGTGATAAAAGTCTCGCACTTT
 TTATTTCTGAAAGTTTCTGCTTTCACTGAGAGCATAATAGGCTATCCACCCTTATG
 CAATCTTACATACAAAGTCATAGTCAGGCTAAATTCAAAAACACATGTGAGATA
 GAAGTCAACGTTTATTTTCTGGAGAAAAGCCACACATTACAACAAAGTGAACAA
 TGAAGCTGGCATCCTTATCACTGGTGACCAAAAACATTTGTGACTCTGGACATTGG
 CCCCACAAATGCGATAAACATTCTGCATAGGAAGTGAGTTTTGCTAATTAATAAT
 GGATCCAAAATACTTTCTACTCTTCAGCCAAGAATTAATAAAGTAATAGGGAGGA
 ATTGAAATCACTTGGGTGCTACATTGAGCCATTCTGGAGAAGCAATTCAGAGAAT
 GTCATGGCAGCCTCAAATTGCTGCTCAGGAGCATCCCAGCTTAGAAGATTGCAGG
 AAAGGAAGAGCAAAGTCATTCTTACATGAGAACTGTCCTTAACCAGATGAATAG
 ACTCTCCATTTTTTACCCTGGCTTTGICTCATTTAAGTCCCAACCAATCTAGCTAT
 CATTTTAGGTTTTACTACCTGCTAGTATTTAGGAGCTTAGGGGGATAAAAAAATC
 CCTCAATACTCAGAATTAGACTTGGTGATAAAAATCTTGACACATAAACAGAATA
 AAGCGCTTTCATTACTCCTCTAAACCACAGTGTCAATTTGGTCTCTATCAAGGACTG
 TAAGAATTTCTTTCATCAGGGGAAAGAAAAAAGGACAAGAGCCTGCAAGATGT
 AGCGGAACCTCTCATTAACACACAGCAGGAGCTTTAACTGGAATCCAGAGTAAGGT
 GAGGTACCAGGTTACAACAATTTACTGCTTTTATTACAATTTTGATCACAAGGAC
 TGATTCATGTCATCTAGTTTTCTTTTCTTGTCACTATCACTGGTGCTAAGAATACA
 TCAAATTGAAATTTAAGAGCCTCATATGTTTCTGTATAACCCAGTGATGGGTGT
 ACTGCTTTGACCTTCTTAAATGTCCCTTTATTTCAATTTGATATCCATTCCTATAGA
 AAAACTATAATGCTTTGGTTGGTCAAAAATATTAATCTTTCAAAACCTCCCTGGCTT
 AGAAAACCAAATTTTTGTAGAGAGAGATGGGTAGAATCTAATTTTATTCTAAAGC
 AATTAGCATTACATCATCACAGCAGAAATATCTAGAATATTACCTCATGTCAGTG
 ATCTTCTGATATGTTAAAAAGGGTATTTTAAATCTGAGTTATTTCTTTTCTTTT
 AAAGTTACATCATTAAATTACATACTCATCAACCAAAATATTTTATGCTCCAAATTT
 GAACCGATATAGTATGTAAGAAGTGTTCAAAATGAAATTATTTTGGTCTATTTTG
 TCTTTGAAGAAGATCACAGGGATGGACCTCCCAAAAGGATTTTTAAATGGGATTA
 CATATCTGACTTTTAAAAAAATTTATCTGACCTTGAGTTATAGTGCCCCAAAGTA
 AGCAAAGTTCCAAACACACAGATCATCAGAATTGAGTTAAAATTATCACCAGG
 GGCTTAATTTCTGAAATTAATAAAGGAAATGTTATTTCTTATGAAAAGAAAAGGA
 ACCAAAAATGAACTTCAAGGTAGCTGATTTCTGTCTATGTTAAGACTTAGGTAAT
 GGGAGAAAGGGAAAAGGAAGGACAGAATTAGGAGAGGAGCAGTGTTTAAACAAT
 TGCGGGTGCAAGACTCAAGTTTTTTTAGAATCCATTAGCAGAGAACCCTATTTCTC
 CCATTAACCTGCTGTCCTTTTAAATCCTGGCACCAGCTCTGAGGACTGCAGGGTCC
 ATAGCTAGTGCCCCACTCTACCCAGTTTAAAGACACCACTGCCTGGAAATGACAG
 GGGTTTTTTTCTTAAGGAAAGAGGTGCTTTCTGCCACGTATATATAAATTGGTAA
 GCTTCAAATAAAGTGCTTTTGTCTTTCTGTCTATCAGAACTGTGCAAATCGAAT
 TGCTGTAAAACCAAGGGCAAGAGACATCAATCCTGCATTCTATAGCATCTGATTT
 TATCCTTTATCCCCAGGCACATTTCAAAGGAAAAAATGAGGTTGCATTTAAAT
 TGAGTATTTGGGACTTGCCAGGAAAACCTCCCCTAGACTAATATGATTGCAGGG
 AAAACAAGAGAAAGGAAAAGTGAGAGAGGGAGTGTGCTAACAGATCCTGGGCCT
 CGTCAGCAGAGCCGTCCTGAGCACAAAGCCATGGTCAGACATCTGGTCCCGCGA
 ATGACGTTTTCTTATGGTCATTAAGAACACCAGTGTGTGCGGACACAAACAAGT
 ATTCCTTTCAGGGATTATGACACATTTTCTCCAAAGTAGTATATTAATGACATTT
 CCAGAGCATTCTTTACTATCTTTTATATGTGATCAGGAAGACTAATACATATCACT
 ACTTCTTTTACACACAGCATTAGCCAAAACCTAAAGTGTCAAATACAATTTTGCCT

10

20

30

40

【0 2 4 9】

50

【化 3 3 - 9】

AGGATGAATAAACAGAAGAAATTTTTATGATACTGCACTATCAATTCCAAATTAA
 ATAACAACAAAATGATAAGTGTTAAAATTTCATATTAATGATTGTTCCACACAAG
 CCGGAAAAAATCTTTCTAAGAAGTCTTTCATGAGTTAATCCCATCTTTCAAAGTG
 TTCAGTGGCTCCGAATTCAGTTACTGTTTCCTATCAGTTCTTCTTTCATTAAGTCTC
 TTCCCTTTTTTTTCTCTTTGCACTATTTCCCTTAGCCGGGTACATAATCTGCTGTGC
 TTTATTTCATTTGTGTCTTAAGTTTGTTCCTGATGACATACCTTCCAGCAACGCC
 ATCTGGGGAGTTTGGGCAACTGTACCACGTTAGGAGGAAACCCTTCTTCACAGGA
 GAGTGTGCCTTTGCTGCAGGGAAGGAATTAGGATTGCTTGGACTGTGGTTGCAG
 CTGGCTTTTAAGGATCTCCTTAGAATGCAAGCAACTCATCAATGAGAATCTCTGC
 AATGGTTGTCACTGGGTAGAGTCATGCTATGTGGGGTCATAGCCTTTGAAACAAA
 TAACAGTAAAGATAAAAATGCTATTAAAGGAATCACCACCCACAGAGGTTAACT
 GGGTTTTGTCCCCAGACCACCTCGAACAAGAAAGAACATTTTTATCAGTCATTTT
 CTTAGTTTTAGCTGATAAAACAAAGTACCATAGACTAGGTGGCTTATAAACAACA
 GAAATTTATTTTCACAGCTTTGGAAACTGGAAGTCTGAGATCAGGCCGCCAGAA
 TGATCAGATTCTAGTTAGGGCCTACTTTGCTTTTGCAGACTGCCAACTTCTAGCTG
 CATTTTCATGTGGCAAAAGGAGATTGAGCTAGCTCTCTGGTCTCTTCTTATAAGG
 AACTAATCCCATTTCATGAAGGCTTCACCTTCATCATCTAATTACTCTCCAAAGA
 CCCACCTCCAAATACTATCACATTGGGAATTAGATTTCAAATACAAATTTTGCG
 GGGACACAAATATTCAGTCCATAATAGTAATGATTACTCATTATACATAGGGCTC
 TAAATGCTAGCTTCTGAGTATGTTTTTACACTCACTTCTCTTTATTAGCTTGTCAA
 GCATAATTAGGGCAGTGGCCTTACTGAAAATTATTGAATTTAGTTTCCTAAGGAC
 AGATATTGAGGAGTTTTTTCTTCACTAAAAATTCACGTTCCGATACAGCTTTCATC
 TGTTACTACTTTGTGAGATGGAAAATCTTTTATTTTATTTTATGTTTGGATTGAC
 CCTTCTTAATAAAGTCGGCATGTAATATGCTTCATGTGTTTCTAATATGTGCTTAA
 TTTTGCAAAATGTTTGCATACCAGAATGCATTTCTCTTCCAAAAAAGGTACCAG
 CCTACAAAACCTTGCTGTTACTGTTTTCAATTAGTTCATGGAATTAATGTATTAA
 ATGTTTTATGCTCTGGCAGAAATTATGATTCTCACTTAACTCCATATAAATCTGGA
 TCTGCCTGGGCCTTTATAAGTGACACAATTCATTAACTGAATAAACAATGATA
 CAAAGAAATTTGGTTTAGCCTTCTAAAAATCCAAAGGCGTTCAACAAAATATCTC
 AGAATGGATGTTCCAGGACTTTTATGGCACAGGACAACATGTATTGCTTATTTTA
 AGAAAATAAGCTAAATAGTGAGGGGATTCTTTTAGCAGATCCTCAGGATGTGTTA
 GGTTGAATCATAGGCAATGATATTTGATCATTGCACCTGTAAACACATTGAACC
 TCATCCTAAAAATTGTAGAGCTAGAAGAAAGCCTTCTGGCAGTTTTTAAATAGATT
 GATTTACTGCAATTTATCCAGAAGCTTCACCGTTGTCACTGGCTACATGTGACTTT
 GGCTCTGTGGGGCTATATCCTCATTTGTAAAATTGGTGGTGAGGTAGGTGGACA
 GTTGACTAAATAATCTCTTAGAATAATTCTAGTATCTGTGGATCTAAAGCATCCA
 GGGGTGAAATATGTTTCTTTCTGGCCAAGAAAAGATGCACCTGTCAATAATGCCC
 AAACATCATCTTCTGAGAATCCTCTTTCCCAAGATACCCACTCTCCCTTGGGTTATA
 TTATAGTAATGATCAGAAGCCCCTGCCAAGAAGAACTGTAAACCTGGGAGGTC
 TATATTTTATTTACAGCCATCTGTTTATACTTTCTCACAAGTTAGTGCACAGTAT
 ACCCATCATTTTCTACCATTTTCTTAATTTATTAATTTTACTAATTGCATAATTAA
 CAAAAGTAAGAAGATTTTACCTCCTTATCCCCATCTGGTAGTTTGCAGATACTTG
 GCCTGATGACAACTGACAGTGATGAGATACTACCAAGTTTACCAGGGCAGGAG
 GCTTCCTAGAGAAAAAATGAGAAAATGAAATGGGGAAGGGGAGTGAAGGATTG
 AGGAGGTGACAATCTGGACTCTTGCAACTGCATGGCAAGGTTGGCACACAAGCT
 GGGTTGCAACGGAGGGAAGGAGATCCTTATCAGATGTAATCAGAGCTCAGATCG
 AGGGCTTTGGTGTGTGTAGAAAGAGGGAGAGACAAAGAACTTAAACAGAGCTG
 CCATTTGACCTTGCAATCCCATTACTTGGTGTATACCCAAAGGAGAATAAATCAT
 TCTATTAAAAAGACACATGTGCTTGTATGTTTCATGGCAGCACTATTCACAATAGC
 TAAGACATGGAATCAAACCTAGGTGTCCATCTATGGCAGATTGGATAAAGAAAAT

10

20

30

40

【0 2 5 0】

【化 3 3 - 1 0】

GGGGTAAATATAAAGCATGCAATACAACATGGCCATAAGAAAAAATGAAATCAT
 GTCCTTTGCTGCAACATGGATGCAGTTGGGACCCATAATCCTAAGTGAATTAACA
 CAGGAACAGAAAACCAAATACAGCATGTTCTCACTTATAAGTGGGAGCTAAACA
 CTGAGCACACATGGACATAAATATGAGAACATAAACTGTGGACTACTAGAG
 GGGGGAAGGAGAGAGGTTTGTAAAACTACCTATCAGGTGCTATGCTCAATACCT
 GGGTGATGGGATTTACACCCCAAACATCAGCATCATTAAATATTCCCATGTAAAA
 AGACTGCACATATACCCCTTGTATCTAAAAATAAACTTGAAATTAAAAA
 GAAAGAAAGAAAGAGGCTGGAAATAGAGGCTCACACCTGTAATCCCAGCACTTT
 GGGTGGCCAAGGTGGGTGGATTGCTTGAGCCCGGAATTCAAGACCAGCCTGAG
 AAACCTGGTGAACTCTGTCTGTACAAAAAATACAAAAATTATCCAGGCATGGT
 GGAGCGCACCTGTAGTCCCAGCTAATGGGGAGGCTGAGGGGGGAACATCACTTG
 AGCCCAGGAGGTGGAGGTTGCAGTGAGCTGGGATCACACCACTGCACTACAGCC
 TGGGTAACAGAGCAACTCTGTCTCAAAGAGAGAGAGGAAAGAAAAAAGAAAAG
 ATGGACAGATAAGAAAATGCACTTGGAGATTAAAGAGAAAGCAGCAACATAGGA
 CCCTGGATAATGTGTTTGCTTAATAACTATCCTGATGAGTTATCTGACTATTCCCA
 AATGAGTACGTGGCAATTCAGGCTGAACCATCAGAGTAGCCCTCCGGAATCTTAC
 TTATGTACAATAGACCTGCATGCACATTTACTAGAATGAGCCTCTCTCTCTGGTA
 ATCATGTCTGCTTCCACTAATTCATCTGTTTCTCTCTCTCCCTCCTATCCTGCTA
 GATCTTAATTCCTTCGACCTTCCTTTGTTTCTTCTAACTCCCTTTCTTTCTTTGTTAT
 TTAACCTGCTATACTATGCAATTGATCTCCTCTGCACTAAGGAACATGCACCTCA
 GAATTCTGTGACATCTTGCAATTCCTTTATATTTAGTGAAAGAATGCAAAGGAGT
 CTACCTGGCAATATTCACCTCTGCAGGAGGCAATAATTATTATTCAAATTAAGGA
 AGCAGTAAAGAGAAATTCAGAAAAAATGAAATATACTAATCTTCAGCTTTTCATT
 TCAGCCTACAAGGAAAAAATGAAGGAGCTGTCCATGCTGTCACTGATCTGCTCTT
 GCTTTTACCCGGAACCTCGCAACATCAACATCTATACTTACGATGGTGAGTAACC
 TAGGATAGACATACCCCTGCTAGCTAGATCATTTGGAAAGGTTGACATATATTTG
 TTTCTTACAGCTCCTGATATAATTACATCAATATTTTGTAGCTCTCACTATTGACT
 TGCCGIGTCTAGCTATTATGTCCAATTGATTACCTATTGCTGAAAACAGTTTGAAT
 TTGGTGCTAATAACAACACATCAATGTCTGTAAAGAAATGTGGATGGATTCTTAT
 TAACAGCCACATCCAGCATATCAACATCCACAATATGTCTAAGGCTTTCTTTGCT
 AAATAATTTAATAGGCTAAGCCATAATTGGAGTAGATCATAATTTGTAAGAAAAAT
 GCTTTATACTTAGAAAATCAAGAGAAAGAATCAACAACCATAATTGTTTTTGTCT
 TTATTGTAGCTTTTATAAAGTTTCTATACCTTTGTATATACATGTCAACCAGCTAAT
 GATAATAATAATTGGCTCAATAAATAAACTGACTTACGACTGAGGCCCTAGAT
 AAAGAGGGTCTGAAAAGAAAAGCCTAAAGAATTAGCATGGCAATTAACATGATT
 GAGGTGCAACTCTTTAGGTTTGATTTATCCTGATTCATTTTGCTTACTTTGGCTCT
 GCCACAATCCACATGATCTTGGTCAAATAGATACTTGGATTCTCTAAGTCTCATT
 AACTCTAGCATCTTCTCTTGGAGTTGTTGTGAGGTTTAAACGGTTTAATGTAAGT
 CAAATATGCAAAACCAAGCCTAGCTCATTATATCACTCTACAATGATAGCTATCA
 TTATCAACATCATCCTTACCTAATTCAGTCAATTTAACTAAAATATTTTATACAGT
 TCTATGTATCCTAGATATCCCTAAGGCATATTTTACTAACTCTCAGGCTCACAAAT
 ATTTTCTTTTCCATATATGTAAAGAAAGACATTAATGACAAAACAACTGACCT
 TGTGGCAGTTAACCCCTTCTGCACCTTTAAAGCCTATTCAAGGACTCAAAGGCAT
 TTACCTTCCAAAGTTATTCTATCGTAGCACAAAAATCATAAATGCTAATTAACCTG
 TTCCATAAGGAAATGTCTCCATGTGAAAGGAATTCTGTCTCCAAACAAAACATT
 CATTAGAATGCAGGGCCAATGCCTACTTTGTACAAATTCATTTCGGTCAGCAAATA
 AATTAGACAGACCTTTATTATTGCTAGATGTAGCTGTGAAGAAGGATCCAGCTA
 TGTTTCTTATGAGACTAATGTCGAACTATGGGTTGTCACTGAGGATCCAGAGTTC
 CATAGGGCGTAGTCCTCACCTTCAAAGAATTAGGGCTTAGTAGAAGAGTCTTAC
 ACAAATGACTAGAATGTAGAACACAGAGTGGTTAGGACAAAGGAGCCAGGGAT

10

20

30

40

【0 2 5 1】

50

【化 3 3 - 1 1】

GGTTTTTGCTGGGTTAGGGAATGAAAAAAGGGGAAGAAAATATGTGAAGTTATG
 TGTGAGCTGATTCTTGAAATAAGCTGTTTTTATTTGCCTGCGTTCTCTTATAATCC
 TTTTCCATAGGCTTCCATAATTTTTATTGAGCTGTATTTAAAGTTGAATAGATAAT
 TCAACATTTCTCGTAAACTGTGCTTCCTAAAAGAGTCCGTAGAGAATTTCAAATT
 TCTGCAGTCTTTAACTTGACCTGGTATTTCTATGTTAGATAATAACGTGACTTGTT
 TATTGCAGGCAAACATTATAACAATAAATTATTATTATTGTTTACATTTGTAAAGC
 ACTAAGTATATGGCTTGTGCTTTGCATTGAGCATCCTTTATCATTTAATCTTCACA
 ACCACCTTAGAAGGAAGGTACTCTTTTTATTTCCATCTTTTAAATGAGGAAATAA
 AAGCATAAAGAAGTTAATTAACCTTACCTAGTGTACACAGCTATTAAGAGGGGC
 TTAATTTGGATGCAATATAGGCAGTTCTAATTCCAGAGCCTCTAATCTAAGG
 CATTTAAACCCCATCACCTTATCAAATAAGCTGTTTTTATTTGCCCGTGTTCTCT
 TATAATCCTTATCCATAGGTTTCCATAATTTTTATAAAATTGTATTTAAATTTAA
 GTATAATCTTGGATGCCATCAGGAAAATGAAAAACATTTTACATTTGTGAAGGA
 AAAAGCCCACATCATTTCCAATATAGTTATTGAGTTAGTATTATCTAGACTATCT
 ATTAGCAGCTAAGGATCTGAGGTCAAGGCCTGCCAGCCTGGCATTTTACTTGACC
 ACAACCTCCATGTGCACTAACCAGGCTGCTAAAAGAACATTAACGGGAACATAA
 CCTGCTGGCTTGGTTGCCACAATTTAAAAAGACGTTAATAAATTAGAGAGCACT
 TAGAGGTTAGGAAATAATATGGTGGTAAAGATCTAGAAACAGTGTCAATTCTGGG
 GCACCTGAAGATGTTTAGCCTGGGGGAACAACCTTGAATGGAACATAACTGTTTT
 CAAACTTGAATAATGGTGGTGCACCACAGAGAATGGCCTAATCATGGGTAGC
 TTCAGACTTCAAACAAGGATCAGTGGGCTAAAACCAGAGAGATGGAGTTTGGGA
 CTCAAAGAATGCTCATCTGAAATTGAGGGCTGACCAGCGAGGTTCTTTAAAAAT
 CATTGCATTTTACTAAATTGTGAGTTCTGTAATTATAAATGTCCTAGCAGGTGCTA
 GCTGTCATCTTTTCTATTATAAATTATACTATTTTATGTTATAATTTGTATTATACA
 GGCTTAAACATAAGGGTCTGATAATCTGCTTATCTTTAATACATAAGCCACTGA
 TAGAAAATAAGTGGCTAACCATTCTTCAGTTCTTTTTTTAATTGACAAAAATTGTA
 TATGTTTGGGTGTATGGCATATTTGAAATATGTATACATTAGAGAATGGCTAA
 GTGAAGCAAATTCACATATGCATTACCTCACACACCTGTCATTTATTTGTGATGA
 GAACAAAAAATCTACTCTTTCAGTGATTTTCAAGAATACAGTACATTGTTATTAA
 CAATAGTCAGCATGGTGTACAATAAGTCTTCTGCGGCCGGGCGTGGTGGCTCACG
 CCTATAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCAAGGCTGGCAGATCACGAGGTCAGGAG
 TTCGAGACCAGCCTGACCAACATGCTGAAACCTTGCCTCTACTAAAAATAGAAA
 AATTAGCTGAGTGTGGTGGTAAAGCGCCTGTAGTCCCAGCTACTCAGGAGGCTGA
 GGCAGGAGAATTGCTTGAACCTGGGAGGCGGAGGTTGCAGTGAGTCGAGATAGT
 GCCACTGCACTCCAGCCTGGCAAAAAGAGGGAACTCCGTCTCAATAATAAGTCT
 CTGTCATTTGTTCTTCTGTTTAACTGAAATTATGTATTCTTTGATCAACATCTCCC
 CAGTCTCCACCCCTAACCCTGGTAACCACAATTCTACTCTGCTCCGTGAGTTCA
 ACTTTATGAATAGTCCACATGTAAGTGAGATCATGTGGTATTTGTCTTTCTGTGCC
 TAGCTTATTTCACTTAGCATAGTGTCCCTCCAGGTTACCCCATGTTGTCAAAAATGA
 CAGGATTTCCCCCACTTTTTTAAGGCTGAACAGTATTCCATGTGTATGTGTATAA
 ATTAGATTAGTAGATGTTGCCACTCCCTCCTCCACCACAGTGGCTCTATCCCTGGC
 TCCTGGCTCCAGCCGAGTACACTAGAGGAGGATATTCTAAACAGCAACAACACA
 GGAGCAAAGACATTACAATGGGGTGTGTCTTATTGCCCCCATTAGACTGTAAGC
 ATCTTGAAGACAAGGACCCCATCACAGAGTGATGTTGTCATCCCTGGAGTGGGC
 ACTGTGCATGATTGATGACTGGAAGCAATGAACATACAGAAGGGCAAAACAGAA
 ATCAGCAGGATGCTTTGCATTTTCAGCATTGACTTTGCCAAATATGCCCACTGTT
 CAGGGAGTTACATTGGTTCTAACGAAGCTCCTGTGATTCTAAGCACAGGAATGG
 TGATAATATATATAATGGTGCATGCATATATACGCATATCTAGATAATGATATCT
 CATTATATGTGAGAACTGAAGAACTCCGTTATGTTTCTCGTCTAACCAAAAAGGG
 CCTACAGCTACGATAATTTCCAAACAAATAAATCTGTGCTACTTGATTTTCATGC

10

20

30

40

【0 2 5 2】

50

【化 3 3 - 1 2】

AAAGCTCATATTTGTTCAAAAGGAAAATAAAGCTTAATTTAAAAATCAATTTAGGC
 TATTTTTATCTAAGTATGCTTACCGTTATTCAACTCCCTGCAGATATTGTCAAATT
 TCTCAATATGGTAAATATTTATTCTGTAAAAATATATCCATAGTTACACTAAAGA
 CAGAGAGGTCTTATATGTTCTAAACAACATAGAGCAAATGCTCATAAACAGCATT
 TTATTCCTATCTCCCGGAATAACAACGCTACTTCCAATTGCTGGAATCTAAATTAT
 TAAAATAAACCCATGCTGCAAGCTTTGTATGCTTAACATTCTCAAATGTTCACTTT
 TCAGATATGGAAGTGAAGCAAATCAACAACGTGCCTCTGGCCAGGCTTTTGAG
 CTGATCTTGAAGCCACCATCTCCTATCTCAGAAGCCCCACGAACTTTAGCTTCTC
 CAAAGAAGAAAGACCTGTCCCTGGAGGAGATCCAGAAGAACTGGAGGCTGCA
 GAGGAAAGAAGAAAGGTAACTTTTTCCATAGGTTTTCTTCTCTCTCCCTCCCC
 TGCTCCTCCCTCTCACACACTCGGGCACACATGCACGCACACACACACACACA
 CACACACACACACACACACACACATACAGAGAGCAATGACAGCTGAACCTGT
 GCCATGCCAACATGTATAGGTTTTTCAGTAGACACAGAGCCAGGCTAGTTGGGGT
 AAAAACTGTAAGATAGATGCTAATTTTAGGCTAGCCAAACCAGAGCTCTCAGAA
 ATCCAAAGAGCTTCAGTGCTCTAGTGCCCCCTTCCCGTATATTGAATCCCCTTATTA
 TAAAAGCCTCCCTTCCCTAGACCATCAGGCAGAAGCACTGTAGAGAAAACACAG
 CCCTGGCGAACTCCAGTGGTGGGGAGGGGAAGAAGTGCTGCTTCCTCCCTCTCAG
 GATCTGTGTCACCCCTTTTGTGAGGCGTGGTTTTCTTGGAATTACAAATTACCAG
 ATCTTCCCTCCAAGATCTTTCCTGCCAGGGTAAGGGCCAAGAGCTTGCCCTTT
 CCTCTTCAGAGTCCCCTGCCCTGGAAAGTTGGTCCCTCCAAGATCAGGACC
 TTCTCTGAGTTCTTTGAATATGTTCTTTATCTTTTTCTAAGACTTGATGGGGATTTT
 TCTCTTTTGGCATTGGTCCCTGCTTATATTAAGAGCTTTCCTTTTGCCAAATCTT
 TACTTTTCCATAATCACATGGCTAAGAAGAGCCAAGGGTATTATTTGAGAACACT
 TAGAAATCCTAGGGACTGTGTACACAAACAGAAGTTGTTTGAATGTGTCTGTTCC
 AACCATGTGGTTATGGTAGTTAATCCCATCAAGGTACTCACGATCATCCAAAAAT
 GGAATTCTTTTATGTAATTCATCCCCACATTGTATTTCCCAATATTTTTTATGATAT
 AATTTTAGAATCAGGTAATCACTAAGAACATGTTCCCTGCACAGTTTATGATGT
 TTTCTCTAAAAAGTCAGCCAAAACCTTTGGACACTTCTATGTTGGATAATTA
 CAGAAATGAAGATAATCCTCCTCCTAAAGATTGAATTCCTCAAGAGAGAATGCAG
 GACAAACACAGATGTGCTGTGTATAGTATATGTGCATATATACATGCATATATGT
 ACACAAATATGTGTATTATCAAATAATGAGGCTCAAACATTAGAAATCCTTAGAT
 TAAATTTTCTAAACAAGAAAACACTAATCTTTGTAGTTGAAAAAAAATCCTCCTA
 TGATATGTAATATGCTGATCTCAATTTTACCTAAGAGTGATGTTCTCCAAATGTC
 CGATGAGCATGTCATATATATATATATGAATTTTTATATATATAATTACAATGGT
 AATTGGTATATAGAGATATCTATATTATAGATATATATAGCTATCTCTATATATTA
 CATATACCAATTATAGATATAAATATAACAATGGTAACCTGGTGTATATGTGATGT
 GTATATATGTATATGTATACCATAATTATATATTAATATTGTATATATGCCATAAT
 TATATATTAATATTGGTATATATACACCATGATTATATATTAATATTGGTGTGTGT
 ATGTGTGTGTGTATATATATATATATATATAAAATACTAGTTATCATTGTTCTAGA
 TTTAAAAAACAGGAACCTGAGCTACTAAGTCTGACTATATATATATATATATATAC
 AGGAAGTTGCTTTAAACATTTTTATCAGCTTTTTTATTGTTATTTTTAGCTTTATT
 CTCATAGTAAAGCTAAAATAAATTATTCACATTATCAAACTTTGCTGCCAGCA
 GATGTAAGCAATACCTAAAACAGTGGAGAGCATGTTGCACCCAAAGCAGTTTAA
 GCTCTGACCCAAGCACTGGCATCTTATAGGCACTGGGTAGAGATAAGAGTCATA
 GGTGACATATATTGAGATGCTATGACTTGATTAGAATATGGAGTCAGTGACTGA
 GGTGAAATTAAACCTCAAACCACAATTCAACATCCTGATTTAGGATGTTGCTGGT
 GTTTCTAGGTACTACACTTAATTTGAAAGAAATTATTGAGGATAAAAAAAGAAGT
 GGGATCAACAAAATTAAGTGGTCTTATAAGAGTCCCTGAGGTTACTAATTA
 ATGAAACTGATAAAGCTCCTGCACCCTGACAGCAAGAAATTATCAATGATTATAC
 ATTTAAACAATTGAATTGAAGTGAAGTGAAGTGAAGTGAAGTGAAGTGAAGTGAAGT

10

20

30

40

【0 2 5 3】

50

【化 3 3 - 1 3】

AATGTAATCATCCAGTGTTATGATGCCCAGAAAAAAATTCCTTAGAATGCTT
 TAAAAGCCGTATTCCATCACCTTTCAGTTATTTGTAAACATTTTGTAAATGCAAA
 AATAACCATATAGATTATGCCCTAGTGGTCGGGTTTTATTTTATGTTTTATGGT
 TTTTTTTGTAAATGGTAGAGTTTTAATTAAGAAAAATACAACCTAATTAGCAGA
 AAGTGCCAACTTTAAAAAATCACTAATTGATTTTATTCTATTGGGTATACTGACT
 TAATTAGCACTAATTTAAAGAACTATTAATTATCTTTAAAGAGTCTTTAGCAAGT
 GCATATATCTCAGTAATTATGTTAGTAAGGACATGCCTATAACCAAAACCCAACT
 CAACTAGTTAAAAACAAAAAGCAAATATGTGACTAAAAAGTCTAGGAGTGGCTAC
 AGCATCAGGAACAGCTGGATCCAGGGATCACAGTATTATCAGAAAACTTTCTTTC
 AGTGCCTGTCATCTCTTCCTGCATTAACTGGTTTCATTATCAAGAAAGTTTAATT
 TCAATAGTCAGTTCCAAATTATTTTTCTCACAACCTTAGCAACTCCAGCAGAAACA
 GAGCTTCTTTTTCCCAATAGTTTAAACAAAAGTCCCGAAATTGAGTCTCAATGGCC
 TGGCCTGGATCACAGGCCCAACCCAGAACCAATCATTATGGCCAAGAGGATGTA
 GTAGTTTGATATGCTAGCCTGAATCACATGCCACCCTGACCTGCAAGGATTT
 TAGGTAAGATCCCTGGGGTAAGAATTGTGGAGGGGTAGTTCCCCAGAAGAAAAAT
 CGAGGTGTTCTCACAAGAGGAAGGGGTAATGGATCTTAAATAAACAAAACCTATA
 GATGTCCACATTTTCTATCTATAAATGTTTAGTGTTACTATAACAATTAGAATAAT
 TATTTAGTTCATACACTATTCAATTTGTATCTCCCTTCTGTTGCCCTGTTGCCGTTA
 TTTTCTTACAGATAGAATGAAAAATATTAATCTAGGCAGCTCTGTGAAACAGTAC
 TGTCCAAGGAATATAACGTGAGCCAGGCCGGGTGTGGTGGCTCATGGCTATAAT
 CCCAGCACTTTGGGACGCCGAGGCAGGTGGATCACCTGAGATCAGGAGTTCAAG
 ACCAGCCTGGCCAACATGGCAAAACCCCATCTCTACTAAAAATACAAAAATTCG
 CAGGGCATAGTGGCGAGTGCCTGTAATCCCAGCTACTGGGGAGGCTGAGGCAGA
 AGAATTGCTTGAACCCAGGAGGTGGAGGTTGCAGTGAACCAAGATGGTACCATT
 GCACTCCAGCCTGGATGACAGAGCAAGACTCCATCTCAAAAAAAAAAAGAAAG
 AAATGTAATGGGAGCCATATGTGTATTTTAAATGTTCTAGAAGCCACATTTTTT
 AAAATAAAAGAAATATGAAATGAATTTTAGTAAAATATTCTTCACCCAATATATT
 CAAAACATTATTTCAATATGCATGTAATCAATATAGAAGTATTAATGAGCTGTTT
 CACATTATTTTATTCATACTAAGTGTGTTGAAATCCAGTGTGTATTTACGTTTACA
 ACTCATTTCAATTCATGTTAGACATATTCCTAGTGCCTAGTAGCCAAAGGCAGCC
 AGTAGCACAGATACGGATATTAACACAGAAAAACACCTAGTGAATAATGGGGAAA
 TTTTAGGCCTAAGTTTTTAAATCCATACCAGATAATTATTAGATTCAAATTTAC
 TTTGTTTTTTCATATATTTTAAATTTACATTAATATGGGAACCTCAGAAAGT
 TCAAAAGAAATTTCCATTCTATGGTTTTAGTCTTTACATTGTCAGAACTAATGCAA
 GTGTGAAGTTTAGGATGTACTGTAAGTAATAGGATCTTCTAAATCTCATGCCTTC
 TTCAGCTACCTACTCTGTTTCTATTTAGTTCCCTCACTGTGGGGAGGGGACTTCTC
 TGAACCTAGGTTTCATCTCTCACTCTCGTTTCATGGTAAACAGGTTTTCCTTTGTGG
 CACCTAGCACAAATTAGTAAGTAATTAGTATTTACTGGCATATTAGTATATATATG
 CATATGTATTTATTTAACCCTATGTCTTCTACTAGATTATAAACTCCATGAAGATA
 GAACTTGCTTTTGTTTAATAGTGCTTGGCAATAGTTATTACTGTAAACATTTTTT
 TTCTTTCTTATTCAACTCCTGTTAGTCATTGCCTGAGTACTACAAATGTTTTTAAG
 TAAATTAATAAATAAATACTTTTACGGGCCAAATGTGAAAGCGGCAATATATAGC
 TTGTTTTGATTTTTTATTCCACCCTCCCATCTAAAACAATTATAGTCACTAAGTT
 TCCAAATGACATCTGAAATTGCACTAAGGAAATCCTAGTCTGGGCAAAATCACTC
 AGTCAACAGATATTTATCAAGCACTTACTATTTGGCAGGCCCTGTTCTAGACACA
 GGGGATACTCATCAAACTTACATTCCAGTGGGGGAGAAAGAGCTAATAAATACA
 TACACAGCATATTAGATGATGCAAAATTAGCAGGACAAAGAGAACTGGGGGTGT
 GGGGGTGAAAGAAGCTAATATTATATGTTATTATTACTATATATAATAATAAT
 TATTGGATAGTCAAAAAAAAAACCTCTTGAATAAGACATTTGAAAAGAAGCACAA
 AGGTAGCAAGGGAGTAGGGCGGGCAGCTCTTCTCTGGGACCTGAACATTCAAAA

10

20

30

40

【0 2 5 4】

50

【化 3 3 - 1 4】

TGATGAGAGCAGCAGGTGCGGAGGCCCTGAAATAGGAATGTATGAGGTGTGTTT
 GAGAAATAACATGGAGGCCAGCGTGGCTGAAGCTGAGAGCAGGGGGAGAGTGG
 TAGCAACTGAAGTCAGAGGTCACAATTAAGGACTTTGACTTCACATGAAATGGG
 AGATCATGAAGGATAATAAAGCCATTTACTACTTTATGTGAATCACAGCATCTT
 TTAAAGAAGTATCCTTTTTTAAAGGGGGAGATGACTAGAAAAATAAATAGTGTT
 AGATAAATAGAGAAAACAGGAAAACATTCTAGACTAAGACAGTGATTCCAGAAC
 TAAGGATCCACAGAGGCGAGAATGCAGAAAAGTGTAGGTTTCAGAGCAGTGGGTA
 GACTAAGGGTTTGGACTAGTGGATTTGGATAGGGAGTTGGAGAGTAGCGAGGTG
 GGATTAGGGAGGGCTGTGAATGCCAGGTTAGTGTGCAAACCTCCATTATATAAGC
 AGTAAGGAGTCACTACAGACTTTTCAAAAATACATACATGTTCCACCTGGCCAC
 GGGTTAGCAACATTTTCGTTGCCCTGGACCCATTTCCCTCCCAATAAGTTACAGGT
 TTGTGAAGATTCTACCTAGCAAACATATTACTTTTAAATAACTATTAATAAATTAT
 CTTACCATGATTATAATCAAAGGAATCTGTAATTGCTAATTATTTCTGATTATTAA
 AAGATAAGCAGTATTGCACTAAATTGACATAATTCTAACTCAAAGTAAATATACA
 GATAGACATGGCTATAGATGTGAAATATGATTTCTGTTAGGGCTTTTTAAATTTA
 AAAAACTTACGAGTTCTCCTCCCTCCCCCTACCCTTAATACCTTGAAGGCCTCTT
 TGTGGGACTTCAGGGACCCCTTCAGGGAACCTATGACCTAGGCTGTATTTGGGGGG
 CTTTCTGGGTTTATAGCTGGAAGGCTGCCACAGAGGCATCGCCACTTGGGCTCAG
 ATTCACTTTGTGTTCAATGTTTTGGCAATGTCCCCACCTCCCCATTCCATCTGTTG
 ACACATTTGAGCAGTACCCTGTTGTTACTAGGTTGGAGGATACTCCCTCGGGC
 TCCTTTGAACCAGAATTAGTGCTCCAGTGATTAGATAATAGAAGAAGCTTGTCAT
 AAAAAAGAATAAGCCCTTTCCTGCTTTTTCTCCATTCTTTGATTATCGCTGGTAGT
 CAGTGATGATCATCTCTATGAGTCTATATCAATCTCATCAGGTCAGTTTGAACCTC
 ATCTCTTGAAATCAAAGTTTCCATAATGCAACTGACCCACAAGGGTGAAATGACA
 TGAATGCTTTAACCATCCATTTATCATTTATTCATTCAACCAACATGTATTT
 AGCAAGAGGCAGCAGAGTTAGCATAACTATACATCCCAGTTGGCCCAGGACAAC
 TCCAGCTAACTCTCGTTGTTTTGATACCATTATTAATTATTTCTCTTACTCTCATA
 AGTGTTCACCTTTGGACAATCAATTACATGAGCATCCTTAGCAGGGCACAGTGTT
 TAAGGGCATCTTTAAAAATATTGCTTTTAAAGACATGTGGTTAAGAGAATGTCTGT
 GTTCAAATCCTGGTTCCACCACTTAAAGCTGTGTGACCTCAAGCAAGTGACTTA
 ATCTCCGTATGTCCTCCTTTGTCAATCTGTAAAATGAGACTAGTAATAGAACTTAT
 GGAGTTAGTGTGAGAATTGGAAGGTTACTCTACAATAAAGACATATAACCAGCA
 TGGTAAAAGGGTTAGCAATTACTATGTGAAGAAGCATCCAGTTTCTGACCTCACA
 GAGATTATCTAGCAAACCTCATGATTTTATAAAGAAAAGAAGTTTCTCATCAACAG
 AGACTGAAATGCTACCATAACAATATACGTTGCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGGAGA
 CGGAGTCTCGCTCTGCCACTCAGGCTCAGGCTGGAGTGCAGTGTTGCCACCTTGG
 CTAATTGCAACCTCCACCTCCCAGGTTCAAGCAATTCTCCTGCCTCAGTCTCCCA
 AGTAGCTGGGATTATAGGCACCCACCACCACACCCAGCTAATTTTTATATTTTAA
 GTAGAGACAAGGTTTTGTGATGTTGGCCAGACTGGTCTCAAACCTCCTGACCTCAG
 GTGATCCACCCACCTCAGCCTTCCGAAGTGCTGGCATTACAGGCATGAGCCACCA
 TGCCCCGCCAATATTTTTAAATATTATAAAATATTCTTTATCAAATTGCATAGAA
 GAAAAGACAGTTTGATAGGTAATAGATATATAAATAGGTCAGGCCAACTAAAAG
 TGTCTGAAAAAATTAATATTGTGAAAACAAAAGGATTTTAAATGACATTGATAAA
 ATCTCACCTAAAAGAGATTAAATTAATAAATCACCTACTTGAACCAGTTCAGTG
 AGATTTTATTAGCATGCTCTCATTACTGGCATAATCAGCTTCAAAGTCACTAAGC
 CTCTGAAAGGAAGATGTGTTGCTTATTCTTAATAAAATGGCATAAAAGTAGATCA
 TTAGTCAACAAACATGATAGACTTACCTTTTCCATTTGTTGGCATCTCACATTGTA
 GATGGCAATTAATAATGGAATCCAGGGAAGAGGGGGTGGTTTGTATAGCAATGG
 ATTATGAAACAAAGTACTGGATTATTCACCGCTTGACATTACAGGAAACATTCTGC
 TCCTTACAGAATATGGCACGTGGGCCACAGAATCTCCGTGTGCTACCTTCTCGG

10

20

30

40

【0 2 5 5】

50

【化 3 3 - 1 5】

TGAAGAAGAGCACCCCCAAGTTTCTTTTCTAGGAGCTAACCACAGTAAACCCAT
 TACACACTTTAGCAGAAGGGCTCATTCTAAAGGTCTTAGGATTTTAATCATTTTA
 AATTTCTGTATGCTTCAGGCTCTTCAACACAAAAGTGAATATTGTACTCTTTGGT
 TTTACATAATTATATTCAATTGTCATATTTCAACAGGACATTATTTGTGACTTTAG
 ATGGGTCAATAATGATTTTCATTGTCAGCAGTAAAGTCAATAATTACAGACACAT
 CACCTACCTACTTGTGTAAAAGCATTTTTTTGGTACTAGGAGATTTAGTGTCTGAT
 CAACGGTCCCTGGATAGCAAGTAATATATATCCCCAAATAATGAAAAGTGACAAGA
 AAATAAATATGTTTACTTCAGAAATAAATGGAAAAATTAGTGCTATCTAAAATGTA
 GTCTTAAGTCTCATCTGTGTACATAAAAGTAAAATGAGTTTTATGTACTAGTTACTC
 AAATTTATCTTCCACTCCATTTGTATAGTAATTAACCTCTTACACTCAGTAATATA
 CAAATTGGTAATTAACCTCTTTGCAAAATGTAAAGTGTTCTAAATGTACAATA
 AGTCTCCTTTCTGTCTCATTGTTTTTCGCTTCACGTACCTCTCATGTAATTATTTT
 AATGATTGAGTTCAGTGTGAGGAGGTTTATGCCTAGAAAAGGTGCTCACCAATA
 ACGTGCTCAGTTCCTAATAGCAAGATCGAGAAGGTTCTTTAGTCTCCCGGAA
 CGTCACGTTGAACATCTCAGTTCATATTTTGCCTTGACATTTGCATTATATCAGC
 TGATCATTGCTTGCCCTAATTTTCCCTTTAATATTTTAGTGACCTTCTATGTTAG
 GTACAGGTTATTTAGAAGTGTTCTTCAAGGCCAGATACTTTTTCTTGAACAATT
 TATTTTAAACAATTTTAGCGATTTTCTCACTTCACCACCTCCGTTTCATAAGTC
 CACGCAATCACAATTCCTTTCTGCTAATCTGCACAGTCAAGATATAAAGTAAGAA
 TACCTATTTGAACATGTAGTGAAGTCTTACTTCTCTGCCAAAAATGAAGGAAAA
 TGCTGCCACTTTTGTATGTACATGTTTTTTATTCTACAGCCTCACTCACTTCATGT
 CATGTTTTAGTGCAGTTTTCTGGACTAACTGCTTATTTTCTCATTGATTAACCTGC
 CTATTTGCTCATTTGGAATTAGAGCCAATTTTTTCTTGGAGGTCTGACTAGAAGA
 TTAACTATGTTTATGTGAGAAATCAATTTCTACCTAAGAAATGAGTTAGAGGAGT
 TATGGGCAGCAATATCTATCTGGATGCTACACTGTGAAAAAGGAAGCGAGGTTA
 TGCCTTTCTACCCCAATGGGGTAGCAGAGACCTCAGGAACTGAGGTAGATGCCCC
 CCTGGTTATTAGCGCCCTGAATAATTTGTTCAAAAATTGACTGCTGGACAGGTG
 TCGTGTGTCACGCCTGTAGTCCCAGCTGTGCAGGAGGCTGAGGCAAGAGGATCTC
 TTGAGCCCAGGAATTTGAGGCTATAGTAACTAAGGTCACACCACTATACTCCAG
 CCTGAGCAACAAAGCAAGACCCTGTCTCTAAATTTAAAAAAAATATTGAATGC
 TTATGAATAGAGACTAATATAGGAAGTCATAAGTATTTCTTGGGATAGAATGCT
 TTCCACCATAATTGACTTGACATCCTGTATTTTTGTATGTGTGGACTTAAGTTTTA
 AATATTTGAAACACAGACAATTATTAAGTCTGCAATGTGTGAGTTAATAGTGG
 ATATAACATTCCCTTCCAGGGTGTAAGAAAAGGTACCACAGAAGTGAGCAGCCC
 TGAAGCACAGCCTGGCCTAGTTTGGCAGGTCTCTGTGAGTTAGCAGCAGACTCAC
 GTGACCACACTCTGTACTGCCTTCTGTTTCTGTTTACCCCCATTAATTGTGCTAAA
 GAAATGCACTTGACACCTATGCTGTGTAATCTCATTTAGCCCCAATAGCAACAAA
 AGTACTAACCCCATTAATTTAGTGCATTTCAAAGTGCAGCCAAATGTTGCACTCCA
 GTAAATGGAGTAGGCATTGGTTATAATGGGAATCTCCATTATTCATAATGGAAA
 CCACAGGAGTTTGTTCATGCAGATCAAATGTGTCCACCAAGGCAAGAAGTATG
 GAAAAAGTGGTGTGCTGTATTACCTTGTAATTTCAAAGCCTTCCCGTCTGAATCTT
 ATTTCCCTGCTGTTTCCCTCTTGACTTTGGTTCTTTCACAAAGGAAAAATTAAGAACA
 CAAATATAAACATTAAGTTAAACACAACCTGAACAAAGTGCCAACTTAATTGG
 AGCATCTGAAAATGAAACATTAGGCAGTTGCAGTGGCCTCTTGATAATAATTCAC
 AGTAACTCTCTGTAAGCTGATCCTGTCTGAAGAGCAGCAGGCACAAGGCCCTG
 GCCATGAAGTCCATCTCAAAGGGCCAGGCTCAGCAAAGCAGGATGCAAACCCAG
 GCTTTCCAAATACCAGGTGGGGCTCATGTCACTGTGCCACAGGAGCTTCTGTAG
 AAAGGCTACTTGAAAAAAGTGGCCATTAATAATCCAGGTGGATCCTATCTAGGG
 CAGTGTGGAAACACTGATCTATGGGAGGAGGAGCAGGAAGGAATTGTTTAACC
 ACTGAGCAGAAATGTTACATTGCTACCTGCCTTTAGCAGCTGTGGCTGATGGGTA

10

20

30

40

【0 2 5 6】

【化 3 3 - 1 6】

CCAGTTGCTAAGAAGAGCATTACCTAACAGTGTATTAAGATAGAAAAATGATTTT
AAAGCACGGCACTTAGAGAATGTTGAAGTTTACTTTGCTTTATTTTGATTTGTTT
GGTTTGACTTTGTCTCCTGGAGCATCCTCCATGGATTTCTGTTTCATTACAAGAGAA
ACCTAGGGCTCTAACCCAATTCCCTAATTCTTGACACATTGCACCCCTGTTTTGTG
ATAATCCAGCCTTCTTCTTGAGAAGGTTTGCTGGACTGGAGGTTACATGTATTG
AATTTTCTAAAAATGAAGGTGCAAAGCTGTCTCCTCTTATTTCTTTGTGGTGCTCAC
TTCATGTGAGATTTCTATCAATACAGCCCAAGTCAGTGGGCATGCATGAGGTG
GAGATGAGGGAGTTAGGAAGGACTTGGACTCTCATCAACCATCAGGATCCCTGA
ATCCACTAACTGTTTCATAATCAAAGAAGTTTGAACAAATACTTCACACACATGAA
ATTGCCAAAATTTTGCATTTGAGTTGTTATACCAGTAAGTCCAGTTGCCATCATCT
CCTTGTCACAAGTGTCTTAAATTTTGCTTTTGATAATAATGATTACCACTCATTCA
GTACTAACTTACTTGATATTAGACACTGCATTAAATACCTTGCAAACATTATTTTG
TTTGATCCTGACAACCATATGAGATAGGTACTATTCTTATCCATTACCAAAAAA
TTAATTTTCATGAAGACTTTTCCAGAGAGAGAACTTTAAATATTTACACACACA
CCTCTCTCCCTGTAACAATTCCGTAGTCTTGATAACAGCAAATAAGCAAAGTCTG
TGTAGGATGCTTTACCAACAGTCCCACCTAGAGGCAGGAGAGTGAACCAGCTAG
AAAATATTTTATTCATATTTCTTCCAGAAAGGCTCCATTGGAGTTTGAACCAATT
TATGTTATAATTTTCTTATTATTTTGTATTGGTTTTCCTGAAACCAATACAAAGT
AAGAAAGCATTGGTTCCACTAAAAATGTCCTAAACCAGCCAAGCACAGTGGCT
CACACCTATAATCCCAGTACTTTGGGAGGCCGAGGCGGGTGGATCACTTAAGCC
AGGAGTTCAAGACTAGCCTGGCCAACATGACGAAACCCCATCTCTACTAAAAAT
ACAAAAATTAGCAGGGTGTGGTAGCACACACCTGTAATCTCAGCTACTCAGGAA
GCTGAGACATGAGAATCGCTTGAACCTCAGAGGCAGAGATTACAGTGAGCAGAG
ATCACGCCACTGTACTTCTGCCTGGGTGACAGAGCGAGACTCTATCTAAAAA
ATAAACACATAAATAGTAAATGTCCTGAAACCATTATGGGGTTAAAGCAAGAG
GCAGGGCTGGTTCCAGGATTTTCTGTCTAATCTCCAGTGAGCCACAGACCTATT
CCTGATCAACTTGAGAATAAACACATCAGTAAAGATGTGTAAGGCTGTCTGACT
TCCCATTTCTGTAGAATTTTATTTGAAGAGAAGTTTCTCCTTTCTCCAGGCCCAT
ATTGTTTATACAAAAAGACCTTTCCAGTAAATGTCCACAACCACTACCATCAACT
AAAATGTTTTCCCACTAATGCTTTCAATGGTAATCAGTATTTAACAGGGCACTTA
GGATTATTTTTTGATCAACCATGTGTTAGATATTCCCACTTATAATTACTCCTGTG
AAGGATTGCCCTCGGGGCATCAGCTGATCCTGAGAAATTATCCAGAAGCCATGAG
TGTGTAATAATTTAGTCTTAAACCTAAATAGGTCAGTATTGGGTGGGACTTTTCTC
AGCTGCATAATGGGGAGAATAAAAAAGAATATGGAAAGAAGTTACGTAACACATC
CTGGGTACACAAACAGAGGTAAGACTTGAACACAGGCCTGACATCAAAGCCCATG
CCAGTATGACTTACAAAAGGTAGACTGGACTACCTGCATTTGAGTCACTAGTGAT
GCTTATCACTGGGCCTCACCAAAGAACCTTGGAATCAGAATCTTTGGAGGTAGAT
GCCAGGCACCTGCATTGTTATCAAGTGCTCCAGTGATTACCATTCACTGTACAGA
GCCAAACAGACTCCTGATGCTGGAAGAAAATTACAGTGCTCAAAGTGCAGGGCA
GGGTGTACATCTGGATCTAAATCACTGAGCAACCACAGGGTTTCAAGAGAGGGT
CAAAACAAGGACTTTCTGCTCTCTGTGGCCAAGGGGACACTAAGTTTGCACTGTT
CTCAGATCTCCAAAGAGACTTTGGTGTATGGGGGATAGGGAGGGGGGAAGGGGG
TGTGAAATAAAAGGAGAAAGTGAATTTGATTATTTGATTGATGAAAATTGAAAA
GCTTATTGTAGGGCCTAGCCTACAGTTGATGAAAAACAATGGATCAGGAAGAA
GATCAGAAGTTGTCTCAGTCCTCAACTGTTTTCTCAGGCTTTGGTTGAATATTGC
CATCCTGTAATTCATTATAGCATTTTCTGTTGCATAAACGCTTAGCAACAAAGCCT
TTTTTTAAAAAAATTTGTAACCTCCTCAATGAGGATTAAATGCTTCTTCTTAAGA
CAGTCCGAAATATACTCACAGCTGAAAATTCAGCTAACCGCATTTCCCAACTAGC
CACATTCTATAGAAACTCTAAGCCATGCAGATGAGTACAGACTTGACAATAGT
GCTCAAGGCTGGGAGTACTATTCATCTGAAAAGAATGCTCCCTCCAATTGGTGGG

10

20

30

40

【 0 2 5 7】

50

【化 3 3 - 1 7】

CCGTTATTCTGCTAGGTTTGTGTTTGGATAATTATAAGATGGCTATGTTTTCTTC
CCCAGTCTCAGGAGGCCAGGTGCTGAAACAATTGGCAGAGAAGAGGGAACACG
AGCGAGAAGTCCCTTCAGAAGGCTTTGGAGGAGAACAACAACCTTCAGCAAGATGG
CGGAGGAAAAGCTGATCCTGAAAATGGAACAAATTAAGGAAAACCGTGAGGCT
AATCTAGCTGCTATTATTGAACGTCTGCAGGAAAAGGTAATCTCAGCAGAGTCTC
GAGCAGATGGATATATTCATATGCAGCACAGCTGGGTGAACTTCCATATGCCTGA
GCACAGAGACGAAGTCAAAATTTGCTGCAGGTGTGAGGACAACCTAACCTCCCATG
GGCAGGGTCTCACAGTGTAGCATTGAGTTAGCAGGAGGTGCAACATGGTAGAGA
AATGGGAATCCATCATGAAAGCTGGAATTTTGTCAAATTTTCCCATGGTGAGTGG
ATTCAGGGAGGCTGATTCATGCTTTTGAATGTGTAAGACTTCTATACAAGCCTC
ACGAGGCAATCTGTAGGAAAAATGTTACACTGGAAATATTAATGTCTATATATTA
TATTGATATAAGTATAAATAACATTTGATTAAATTTTGTAAATATATGACATTA
AATATATATTTAATTAATAATTTAAATTAGAAAAATATATTTGCCAGAAAAGGCC
AGGGTATTTATGAACACTGGTAAGCCCATCTAGGGTATAATAGCATCACATGGG
ACCATAGCAAAGATTAGCTCATAGGGGATGTTTCATCCAGTTCTGGTATCCTGGT
GCCCTTCTCTTCAACAACCTAAACATATATTCATTCCCATGAGTCAGGAGGAGCT
GTGCTGGAGTTCTTCTGAAAAATGCTGTCTTTCACTTTGTACTCTCTATGCTGTC
TCCCACCTATCCCCTCAAAAAACCTTTCCTTTGAAAAATATACAGTATAGCTGTGA
GTAGTTTAGCTGTGTCCGTTTCCAGAAATTGGAATAAGCATTGAGAAATGGGATG
TTTGAGAAAGACGCCTCAATCCTTTTCTGAGCAGTCAGTCACCCTTCCCGCCAGT
AGCAAGTGCCTTTGTGTGATAGGCATTGGAGATGCAGAGCAAAACAGGAGTGTG
CCTGTCATCAGAGCCCTGAGAGTTTAATTAGATGAGCCTCCTGTTTTCTATTTCTC
AGAGTTTCATGTCTTCTGTAGAGATGGCCCTTCTCATCTAAGGTTCAAAAAACC
TTATCCTGAAGTTCTGATGATTCTGTTTTTCATTCTCAGTCTCTGACTGCAAAATATC
CAACTAGAAACAAAGGAAATCAGGCATGAAAACCTTTTAAAGATATAATTGCATG
GAGATCTTCATTTGTGCTCGTGAGGAATTTTGAAGCATTGCTGGGGAAGGGTG
TGTGGGCTCTGATGCAGCAGTAAGACACTGAGGCTCTCAGAGGTCCGTGGACGA
GTACTGCTGACTTGGGCAAGAACCGGAATAGTTACCTGATGCCTTATCCGAAACA
TGAAAGTTTCGGATTAAATTTGTATTTATAAGCTAGTGTTTTTATACTCTCAGAACA
ATGTCATTGCGTTTCACCCAAGTGAGTCAAGTCACGATTGGAAGAGGCAACAG
AATTTGGCTCTCTCCAGGTGATTTATGGCGGTATAGGAACACATGTTTTACTCAG
ATACAGGGGAGCAAAGTTCCATTTGCTAAAGTTTACTCCCCTGACCTTCAACCAG
TCAGTCTTCCTCCATCTGCCACCCTTTGCACTTCTCCAGAGAACTAAGGATGTTT
CCGCTTGACCAGTGCTCATAACATGGACAGCAGAGGGCCACTGTGTGATCTCTTT
GAGATCACTGTGACTCAACCTTCTTCTCACATCCTAGGCCCTAAAACAATTAAGT
GAAGTTGCTAGGAACGGTACCTGCTGATCTTATTGCAGCATTCTCAATTAGGCCT
CAATGCAAGATTTATATCACTGGCAGTCCTGGAGCATTTTTGTTTTTCAAATTACA
CATACCCAAACACACGGCATAGCCTCCTTTTTTGTGTTGTTGTTTTTGGAGATAG
AGTCTCGCTGTGTGCGCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCACGATCTCAGCTCACTGCA
ACCTCTGCCTCCTGGGTTCAAGTGATTCTCATGTCTCAGCCTCCCAAGTAGCTGA
GATTACAGGCGTATACACCACGCCCAGCTAATTTTTGTATTTTATAGTAGAGACA
GGGTTTTGCCGTGTTGGCCAAGCTGGTCTCAAACCTCCTGACCTCAAGTGATCCAC
CCACCTCGGCCTCCCGAAGTGCTGGGATTACAGGTGTGAGCCACCGTGCCAGCC
AGGGCATATCCTTCTTGATTTCAATTGTAAAATAGTTCAAAAAATTTCCATATTTT
ATCTAATATTTCCAGAAGTGCTAGCTTTTAAACGGACCATTTTTTCTCTGTGTGT
TTTTTCTCTTACCTAGCCAGCCATGCTCAGCTCATTTTTGTACTCTTTCCACTC
CCAACCAAATTTAGTGCCCTCCCCCATACATGCATACATGTACATCTGCACACCA
CTTTTCTTGAAATAATCAACCCAAAGAGTGCTTAAAAATCCTGACATCAACCCA
CAGAATCTCCAAGGATGGGACCCAGCATCCATATTTTAAAAACTCTCCATATA
GTTCCAATATGCAGCCAGATTTGAGAAGTAGTGGTTCGTAGCCTGTTCTGATTTA

10

20

30

40

【0 2 5 8】

50

【化 3 3 - 1 8】

AATCTCAGCTCTCAGCAGTCTATCCACGTCACATAATGCAGCCCAGAGAAATTC
 TAGGACCACATTTTTTCTGGTATTTTCATAGCTAATGAGGTGCTTTTCAAATCTAA
 TAGGATCTTTGGCCAGTGTCAAGATCTTTTATCTCCTCAATAAAAAGGAAA
 TACCATATTTACTTTGATTTGATGTATATCACATAGGTGGATTTAATACAAAATTG
 TGGTTTACATATTGTGAATGTGTATACTAAACTACTTTGCTTTTCTTAAATAA
 GACAAAGTTTTATATTGGAAGTAATATTTAGCATTGTTTGAATGAAGTTACTCC
 TATTAATAATAGAAATTTAAAAGAGGGTCAGTAATAACAGTAAAGCCAAAAGGCA
 TGACACTGCCAACGTAAACATAAGCTGCTCTGAAATCTACCATATCAAAAAGATAAT
 TATGCTGGGCATGGTGGCTCACACCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCAAGGC
 AAGAGAATTGCTTGAAGCCAGGAGTTCGAGACCAGCCTGGGAAATATAATGATA
 CCTTGCCTCAAACAAAAATTCAAAAATTAGCCAGCAGTGGTGGCACACTTGTA
 AAATGCCTGTAGTCATAGCTACTTCAGAGGCTGAGATGAAAGGATTGCTTGGGCC
 AAGGAGTTCGAGACTGCACTCCAACCTGGGAAATATTGTGCCACTGCACTCCAAC
 CTGGGAAACAGAACAAAGACCTGTCTCTAAAAATAAAAAAGAAAAAAAAAAGATGA
 CCACTTCTGAAATGACACCTATCAATGAGTTAATCATTCAATGAATATGTATTGA
 GTCCCTACTATATGCTTAGGAACCTTTGTAATATCATTACCAACCATGTCTTTCCC
 AATACAGACAATACAAAATTCAAGCAATAAATAATATAGCACCAACAATTAGAGA
 ATAAGACAACATGTAGTATGGTCCAATATAGACAGTAAATACAAAGACACTGAA
 TAATATCAGTAAAAGTAAATTACATCAAAAGTCACTACACCATGCGCCACCCCTT
 ATGATAGCCCTCACTGGCCCTATCAATTAAGCAAGAGACATGATACAACTCTGTG
 CAAGCTTTTCCACAATCTGCCTACCATTCAAGCACTCAGTCGCTCTTCCCTTCAATT
 AAGAGAATTGAGCATTCAAGCATATTTTACCATGATGCCCATAATGGTATCTTC
 AATGTCACTGACTGATAAATTTCCAGAAACCCCTCAGAGCCCCAGCCATGTTAGC
 TCAAAGCCTTTAGCTAAAAGTAAAGCCTAAAGCAAAAGCAGCCCTGGCTGCAC
 TTCGGAATCTACTGGACAGCTCTTTAAGGGATTCTGATTAAATGTCTGGAATAGG
 GCCAAGAACCTTGTATTATTTTAAAGGCTCACTAGTAGGCTCTAATATTTAGCCG
 TGGTTGAGAACCCTGTGCTAAATGTTTCTTAAATATGCTTTGTGATGTCATCATA
 AATTATATTTTAGTATTTTTTGTCTTTGTTGCATAAGTGTCTTTCTTCTCCTCCAAAG
 AAGAATGTTACACTCATTTCTTATTTTCAAGTTTCTGTTTTTCATAGCACCTCATCTT
 AACACTCCAGGCTATTATATAGAAAAGAATCAAAATGTGGAGAAGGCTGTGGGAG
 AAGGGATGCCTGTGCCACAAAGGCCCTGCATTAGGCTGACCTATTGATGTCATATC
 CAGGACTCAAAAGACTAGTCTGTGGATTATGACTGGTGAAGTTCAAAATGTTCTT
 ATTCTTAGAGTGGTATGAGAAGTAGAAAAGAGAGAGAAACAGAGAAGGGGAGGA
 GAGGGGAAGAGAGGAAGATGAGAGAAAGGAAAGAGAGGGGGAAACACCTGTTCT
 TTGACATACAGGAATGATTCAAGACATTTTCTTCTCCTCCCCTGATGTGTCCCTTTCT
 CCCCTAACGCACTATGCAGCATCCTGCAGAAAATTCACCACCTGACCCTTTTAGA
 AACCTGAGTAGTAGGAGCGCCAAATGACCCAATCAAGAATTGCAGTGAGACAG
 TTAGTTTTGAAAAATCAGTTAAAGCATGTATAATCATTTTAAACAACAATACATCT
 ATTCACTAAACATATAATTTTAAATGTCAAATATTTACGTGTAAACATATTGACCA
 ATCTTTTCGATGTAGTTGGGCCCCAATACCTTTTCCAAAATTTGATCAGTTAATGGG
 GGTTCTATGGGGGTTTCTTTTCTTGCCATTATTCACACTIATGTCACATTAGCTAT
 GATTTGCAGTTTTAATTTCTTTAAATTTGAGTAGGGACTAAAGACATCTCCAAA
 AGCCTGGATATAGACTTTTTACAACCTTTTCCATAGCTTTTATAGTTGACTCACCCA
 GTATCTACTAAATACTTCACTTTCTCACGTATTTCCAAAGGTTTCTCTCCACCCTC
 ACAATTTTCCATTAATGTAGTACTTAATTAATTTAGATAGTTAAATTTTCAAATGT
 GAATTGCTAAACAGGTGTGGAATACCATTTGGCTATAATCAAGCATATAACACA
 ACCATTTGAGAAGGAAAGTATGTGGCAATATTAGGGAAGAGCCCTTTCTCTCAA
 GCAATTCAGCATTTAGGAACCATCAGACAGCAGGACGATGGAGGGAACAGAGA
 GGGTTAACATGGCAAGTTACTGAAGAGGACTTCTACTGAATCTTGTGTAATTTCCC
 CACTTAATCCAGATTGTATCATATCTTCTTTCTTTTGTAAATTTACCATATCATCTT

10

20

30

40

【0 2 5 9】

【化 3 3 - 1 9】

AGTCAATGCCAAGACTTCTGAGCTCATAACATGGTAACAAATACCAAAGGAGCT
TTCAGTATCGTTTAGAAAGGAGAGAAGCAAGTAACCCAGACAAACTTGACAACT
GCTTTCCCTATCCAACCATGAAGTACAGTACTTAGGAAATAAAAGAAATTGCTT
CACTATAATTCATCATTTTCACTTCTAATATCTAGAAAATGTCAAATGAAAATATT
ATAGCCATATTTTAGTGGCAATAGTAGCACATAATATGATGCAACTTAAATGAT
AAAAATATTTTCAGGGAATAAGATTCTGTGATTCTTTCCCTAAGAGGTAATTTTG
ATAATATGTACCTGTTTTGTAAATGTCAATAGTCTTGGGGATACAGGTGGTGTTT
GGTTACATGGAAAAGTTCCTTAGTGGTGATTCTTGAGATTTTAGTGCACCCAATA
CCCAAGCAGTGTACACTGTACCCAATATGTAGTCTTTCATCCCTCGCCCCCACTC
CCAACCTTCCCCCACAAGTCTCTAAAGTCCATTATATCACTCTTATATCTTTGCT
ACTCATAGCTTAGCTCCCACTTATGAGAACATATGATAGTTAGTGCTCAATTCCT
GAGTTACTTCACTTAGAATAATGGCCTCCAGCTCCACCCAAGTTGCTGCAAAAGA
CACTATTTAGTTCCCTTTTTATGGCTGAGTAGTATTACATGGTGTATATATACCACA
TTTTATTTATCCACTTGTGGTCAATGGACACTTAACATTAGTTCCATATCTTGT
AATTTCAAGTTGTGCTGCTATAAGCATGCATGAGCCTGTGCTTTTTTCATATAATT
ACTTCTTTTCCCTTTGGGTAGATACCCAGCAGTGGGATTGCTGGATCAAATGATAG
TTCTACTTTTCAGTTCTTTATGTTTTCCACAGTGGTCATACTAATTTACATTCCCATC
AACAGTGTAAGTGTTCCTTTTCATCACACCCATGCCAACACCTATTGTTTTTG
ACTTTTTAATTACGGCCATTCTTGACAGGAGTAAGGTGGTATTTTATTGTGGTTTTA
ATTTGCATTTCCCTGATGTTGACAATATTTAACTCTTTAGTTATAGATTCCAGCTA
TTATCAATTTACACCTATTGCATTCTCTCATCTTTTGTTTTCTTGATTCCTGATG
CACAAATATCATTTGTGCAACCACTTACTGTTGAACATGTCTGATGAACACTTAC
TATTGAACATGTCTGATGAATGAATAATGAAATAGGAAAAGGGATTAAACTAG
CCTTTATTAATTGTTTGCTATAGGCCAGACATTTTTGGATGTACTATCACATTTCA
TCCAAACAACAACCTAAAAGAAAATACTGTGATTATCCCCATTTACATCTAAGG
AACCTGGTCTTTAGGAAGATTAAAGTCATTTGGCCAAGATCACAAGTAGACCACA
GAGACTAGATTTGAATGCAAGTCTGTTGACTCCAAACCTTTTTACTATCTGCCCC
TGACCCCTGATCACCAACATCTCAATGTATGAACATGTGCTTCTTAGCTCACAC
AACTCACTCCTGACCCCTTTTTTATATTGCAAGTGCATAGTCATTAGTAAAAAGA
AGGATTTTTGATGATACTGACCTCATCTTGAATTTAATTAGGCTCATATGACAGA
ATTCATAGATGGAATTGACATCCTAGGTCATATAGTCCAAGTCCTTGTTTATATT
TGATACCTAGTGAGATTAAAGGGACATTAAGAAAGTAAAGAAAGGAAAGACCTCA
TATTTCTTACCTTCCAGTAGAGAAATCTTTCTATGAAATCAGAGGAAAGAATTAG
AGGACCAGAATTTTTCTTAAATCAACTTTCATACATCTTTTTTCATATAAAAGGC
ATAGCTGCATACAATGCTAAAATATTGTATTACATTTCTTTTATATTGATGGGAG
GAAGGGGGTAAATTGCAGAAAACATTGTAAATTTAGATATGCTTGGGCCTCTGA
CAGTGCCTAGCAAATATCAGGAGATCAATAATGAAATAAATATTATCAAAGAGT
AGTCTTCTTGATGAACCTTCTCTGAGTATCACAACCTGCTTTAGGAACCTCTAGATT
CAAGGTCTAGTAATTGCAAACAGTGAGCTGATAAGAAAAACAGACTGTATGGGA
AATTACATGCTTCCTGCATGACTGCCTTTTGTTCTCCACATTTTGATATAAAGTC
ACATTAACAGTTTCATGAGTAAATATTCGATAATGTGAACGTAAAGTGTTCAAATA
ATAGAGTGACTAAAATGCCTGAAAACAAATAATTTTTAATTAGAACTCATAATC
ATTTATTTTCTCTTTTCCACATTATCTCAAGCTCACAAATTATTTTATTCTTTCC
TATGGCAAAATCCATTTTGTTAACTAATTTTGAGTTTAAACAAGAAGTGTAATC
CAAAGTAGCCTAATAATACTAATTATAATGTTTCCTGCTATGTTATCAGTTTGAAT
TTATATGAATCTTTAGACTTGAGGCTTCTTTTCTAGCATAGTGATGGTCTGGGC
TTTTCTCAATTTTGCCAGAGCTCAGCTCTCACTAATTAGTTTCTTTCTGCATGA
GAAAAAGATTTTGCTTCATCTTTTCTTATAATAGCAGAACAAAAAGAAGAATC
AGCTGCATCCATGCTAATTTCCCCTGTGACATTTCCAAACAGGATTTGATTTCTCT
ATGCATGCCTCTTCTCTTCTTTCATGGTTTTGAACATATACAAAAGCTCATTTA

10

20

30

40

【0 2 6 0】

50

【化 3 3 - 2 0】

AACCAATTAATAAAAAATTGTTTTTAATCTCTTTCTCTAGAGTCAACTTCCTGCTTA
 CTCCAACCTCTGTATCTTTGAAGGAAGTATAGGGTGGTCTATGCCTTTTTTCTCCCA
 GAATCTACACTTGAAAAAGACACATTTTTCCATGCAACTATAAAATGTTCTCCTCA
 CTCAACATTGAAATTGTATAGCAGTGATTAAGAGAGTGAGCTGTAGAGCCAGGT
 TCCCTGGGTTTAAATCCCCTTGTAGTATCATGAAGATGGGCAAGTTACTTACC
 CTCCTGTGTTTCAGTTTCTTCATCTGCAAAATGGGGACAATAATAGAATGTCCA
 CTATAAGATTATTGTGAGGATTAAGGGAATTAATACAGGTAAAACGTGTACTGAT
 GCAGGTCTGGTACACATTAAAGTGCCTAATAAATATTCAGTATTATGATATAAAGA
 ACCCTATAAGTGTAGACTCCTTGAGATTAATAGAGTTTAAACGATAAGTTTTACTT
 TATAGCTGGTCAAGTTTATTTCTTCTGAACTAAAAGAATCTATAGAGTCTCAATTT
 CTGGAGCTTCAGAGGGAAGGAGAGAAGCAATGTAAGCAACATTCTACAGAAATA
 TAAATAATACTACTAATAATTAGCATCTTAAAATTTCAATTCAATGAACATTTATT
 TAGCGCTATGATATATGCAAGACAGTTTGATTTTAGTCATCTGATGTATAGCCA
 CATACTAAAAAATACTGATTTTAGTCATCTGATGTATAGCCACATACTAAAAAAT
 ACTTCCTCCATCAGTTCCTCCTCAGGAAGTTCAGTTCCCAATCCCAGGCTAGTA
 CTTGGTTCTTATGTAAATAAACATCCACCAATTACATGCTATCTGCAAAGCAC
 TCTGCTAGGCCCTGCAATGGAAAAAATGATAAAACATAGTCCAGGCCCTC
 AATGAGCTTACAGTCAATATAATAGAGGAGACAAGAAGAGAGAGGCTCATAAT
 ACACTAGAATAAAATGACTGCCGAATAAAAGGAAAGATTTATGCAGGTGTTCA
 AATGGAAAGTGAGATAAGTTTGCAGGTTAGTCTTTGCAGTCTCATAAAAAATCTTT
 ATGGAGAAAAGGACAATGGTCATAGGGCTTAAAGAGTAAGTTTATAATCCTGAC
 CAGTGGAGATGAAAGACTAGCATTGAAAATTCATGACAAGACAATTCATTAA
 ACTGAAACATCAAGTGTGTGTAGGAAAAGATGGGGGTTATGACTGGAACGTCA
 CTTGGACTGCAATTATGAAGGGCCTTGACAAACAGGTCAAGAGTTTAAAGCA
 GTATAGAAAGTCTTCGTCCTGGATCTAGCCCTCCCAGAGTGTCCATCAGGATTAT
 AAAGTCCTTAAATATTAGTCAAAAGGAACGACATCATTAGAAATGATAGAGAA
 ACAATAATGTGATGTTTATTACCTTCTCTGGATTATACTCTGATCCTAATATT
 CAAAATATCTTAATAACATGAACTTTTGGTCATAGTTTTAAACAAAAACAGTGT
 TAAATATATTTTTTAAACACAGTAAGTCTTGTAAGATCTTTTCTAACATGACATT
 TTGCAGGGCCCATATTTTCTTCTGAAATGGGAAAAATTCATAAAAGTAGACACC
 AAATGGGTTACTTCTAGTCAAGCGCATGGTACGCAAAGGACCAGACAAAAAGG
 GCCTGTGACATTTCTTCTCTTTTGTGTTTTTAGGAGAGGCATGCTGCGGAGGT
 GCGCAGGAACAAGGAACCTCAGGTTGAACCTGTCTGGCTGAAGCAAGGGAGGGTC
 TGGCACGCCCCACCAATAGTAAATCCCCCTGCCTATATTATAATGGATCATGCGA
 TATCAGGATGGGGAATGTATGACATGGTTTAAAAAGAACTCATTATAAAAAAAA
 AAAAAACAAAAAATCAAAAATTAAAAAAATCAATGCGGTCTCTTGCAGAAT
 GTTTTGCTTGATGTTTAAAAAATACCTTGGATCTTATTTTGTAAATACTTACATTT
 TTGTTAAAAAATACAAGTATTGCATTATGCAAGTTATTTTATAATCTTACATGTCC
 TGTAACAGGCTTTTGATGTTGTGTCTTTCCACTCAAATGAATTTGCTAGGTCTGTT
 CTTTTGAAGCTCCCCATGTCTAACTCCATTCCAAAAGAAAAATGAGGTCAGTAG
 ACAGTCTATGGTGCTAGAAACCCACCATTGCCTAATGACCTAGAAGGCTTTGTTG
 TCTCTGAGCTTGACTAAGACCATACCTAGATCACAGGTATTATGACTCCACATGA
 ACCTTCACATTTGTTTCGCTCATAATCTACTTACTGCCTAAAACTACAAAACCAG
 GCTAAGAAATACCACCAGTCATAGCATTTACTTCTGCTTCTCCTGGATTATGTGCT
 ACAAATGTGCTTTGGCTTTAGAAAGGGATGGATGAGAAGACAGACCTGAGACCA
 ATCTGGGTAGAAGCAAAAAGTTGAACCTTTTAAAGTGCTGAACACAAATCCAAA
 TTCGAATGGTTCAAGCAGCCGTGAAATCGCTCTTCATAAAGTGGGCTTAATTCTC
 TAGTTTAAAGTCTTTTGATGGAATGAATTAATTAATGTGTCAGGTGGCTTATTTGT
 GGATGCCATGATTGATGATGTTTAAAGCTCTTACCTATAGTACAAGTACAT
 GATGCTACTGAATATTTTTCCACTTGGAACTGTGAGCTGGTTGTTGCATTAAAA

10

20

30

40

【0 2 6 1】

50

【化 3 3 - 2 1】

CACACATACAAACAAAATCAAAAACACTGCGGACTTTCACTCAAGCTGGTCTTTC
 TTCCCCAGTGTAAGGCAATCCTGCCTACTAACAACACCAACAACAAAACACTCC
 ATCTGTGAAGCTGACGCAGTTAAGGGGGCTAGGCAGGGCATTGTGCCAACTAA
 GAATCACCAGATACCCACCATAAGTACCTATCGCAGTTTTGAAGTCGTTTCTCCC
 CAACTCCCAACTCCTGAAGGTTGCTGCCTGCATATTTACTCTTCATTAGTGCTATT
 TTCCTGTATGTCATTGTGAGCAAGCTGTGATTAATAAAGAATTGGAGTTCTGTGA
 ACTAATAAAGGTTTGGTCTGTT

(配列番号 1341)

10

【0 2 6 2】

STMN2 転写物の領域を標的とする STMN2 オリゴヌクレオチド

様々な実施形態では、本明細書に開示される STMN2 AON は、配列番号 1341 に対して、少なくとも 90% (例えば、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100%) の同一性を共有する配列を含む STMN2 転写物 (例えば、隠れエクソンを含む STMN2 プレ mRNA) の特定の領域に対して相補的である。一部の実施形態では、STMN2 AON は、配列番号 1339 または配列番号 1341 に対して、少なくとも 90% (例えば、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100%) の同一性を共有する配列を含む STMN2 転写物 (例えば、隠れエクソンを含む STMN2 プレ mRNA) の特定の領域に対して、相補的である配列を含む。一部の実施形態では、STMN2 AON は、STMN2 転写物の特定の領域に対して、85~98% 相補的である配列を含む。一部の実施形態では、STMN2 AON は、STMN2 転写物の特定の領域に対して、90~195% 相補的である配列を含む。

20

【0 2 6 3】

一部の実施形態では、STMN2 AON (例えば、STMN2 AON) は、多くとも、7 個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを有する。一部の実施形態では、STMN2 AON は、多くとも、6、5、4、3、または 2 個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを有する。STMN2 AON のセグメントは、スペーサーを介して、STMN2 AON の他のセグメントから分離されてもよい。STMN2 AON のセグメントは、配列番号 1339 または配列番号 1341 に対して、少なくとも 90% (例えば、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100%) の同一性を共有する配列を含む STMN2 転写物 (例えば、隠れエクソンを含む STMN2 転写物) の特定の領域に対して、相補的である。

30

【0 2 6 4】

一部の実施形態では、STMN2 AON は、STMN2 転写物の特定の部分、配列番号 1339 の位置 144~168、173~197、185~209、または 237~261 のいずれか 1 つを含む STMN2 転写物の特定の部分を標的とする。一部の実施形態では、STMN2 AON は、STMN2 転写物の特定の部分、位置 121~144、146~170、150~170、150~172、150~170、150~172、150~174、169~193、170~194、171~195、172~196、197~221、249~273、252~276、または 276~300 のいずれか 1 つを含む STMN2 転写物の特定の部分を標的とする。一部の実施形態では、STMN2 AON は、STMN2 転写物の特定の部分、配列番号 1339 の位置 144~164、144~166、145~167、146~166、146~168、147~165、または 148~168 のいずれか 1 つを含む STMN2 転写物の特定の部分を標的とする。一部の実施形態では、STMN2 AON は、STMN2 転写物の特異的部分を標的とし、該 STMN2 転写物の特異的部分は、配列番号 1339 の位置 173~191、173

40

50

～193、173～195、173～197、175～195、175～197、177～197、または179～197のいずれか1つを含む。一部の実施形態では、STMN2 AONは、STMN2転写物の特異的部分を標的とし、該STMN2転写物の特異的部分は、配列番号1339の位置185～205、187～209、189～209、または191～209のいずれか1つを含む。一部の実施形態では、STMN2 AONは、STMN2転写物の特異的部分を標的とし、該STMN2転写物の特異的部分は、配列番号1339の位置237～255、237～259、239～259、239～261、241～261、または243～261のいずれか1つを含む。

【0265】

一部の実施形態では、STMN2 AONは、STMN2転写物の特異的部分を標的とし、該STMN2転写物の特異的部分は、配列番号1339の位置144～168、173～197、185～209、または237～261のいずれか1つからなる。一部の実施形態では、STMN2 AONは、STMN2転写物の特異的部分を標的とし、該STMN2転写物の特異的部分は、配列番号1339の位置144～164、144～166、145～167、146～166、146～168、147～165、または148～168のいずれか1つからなる。一部の実施形態では、STMN2 AONは、STMN2転写物の特異的部分を標的とし、該STMN2転写物の特異的部分は、配列番号1339の位置173～191、173～193、173～195、173～197、175～195、175～197、177～197、または179～197のいずれか1つからなる。一部の実施形態では、STMN2 AONは、STMN2転写物の特異的部分を標的とし、該STMN2転写物の特異的部分は、配列番号1339の位置185～205、187～209、189～209、または191～209のいずれか1つからなる。一部の実施形態では、STMN2 AONは、STMN2転写物の特異的部分を標的とし、該STMN2転写物の特異的部分は、配列番号1339の位置237～255、237～259、239～259、239～261、241～261、または243～261のいずれか1つからなる。

【0266】

STMN2オリゴヌクレオチドバリエーション

様々な実施形態では、STMN2 AONには、以後STMN2 AONバリエーションと呼ばれる異なるバリエーションが含まれる。STMN2 AONバリエーションは、長さが5～1000個の核酸塩基、例えば、長さが10～40個の核酸塩基、例えば、長さが14～40個の核酸塩基、長さが10～30個の核酸塩基、例えば、長さが14～30個の核酸塩基、例えば、長さが16～28個の核酸塩基、例えば、長さが19～23個の核酸塩基、例えば、長さが21～23個の核酸塩基、または例えば、長さが18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、もしくは30個の核酸塩基のオリゴヌクレオチド配列であってもよい。STMN2 AONバリエーションは、STMN2プレmRNA配列またはSTMN2遺伝子配列の一部に対して相補的なオリゴヌクレオチド配列であり得る。

【0267】

様々な実施形態では、STMN2 AONバリエーションは、配列番号1～446または配列番号893～1338のいずれか1つから選択される核酸塩基の配列を含む、対応するSTMN2親オリゴヌクレオチドの改変型バージョンを代表する。一部の実施形態では、STMN2 AONバリエーションは、配列番号1～446または配列番号893～1338のいずれか1つから選択される、STMN2 AONの核酸塩基の配列の短縮バージョンを代表する核酸塩基の配列を含む。一例として、STMN2親オリゴヌクレオチドが25mer（例えば、長さが25個のヌクレオチド塩基）を含む場合、バリエーション（例えば、STMN2バリエーション）は、25mer STMN2親オリゴヌクレオチドのより短いバージョン（例えば、15mer、17mer、19mer、21mer、または23mer）を含み得る。1つの実施形態では、STMN2 AONバリエーションの核酸塩基の配列は、1、2、3、4、5、または6個のヌクレオチド塩基が、STMN2 AONの核酸

塩基の配列の3'末端および5'末端の一方または両方から除去されているという点において、STMN2親オリゴヌクレオチドの対応する核酸塩基の配列とは異なる。1つの実施形態では、対応するSTMN2 AONバリエーションは、2個のヌクレオチド塩基がSTMN2親オリゴヌクレオチドに含まれる25merの3'末端または5'末端の一方から除去されている23merを含み得る。1つの実施形態では、対応するSTMN2 AONバリエーションは、STMN2親オリゴヌクレオチドに含まれる25merの3'末端および5'末端のそれぞれから1個のヌクレオチド塩基が除去されている23merを含み得る。1つの実施形態では、対応するSTMN2 AONバリエーションは、STMN2親オリゴヌクレオチドに含まれる25merの3'末端および5'末端のそれぞれから2個のヌクレオチド塩基が除去されている21merを含み得る。1つの実施形態では、対応するSTMN2 AONバリエーションは、STMN2親オリゴヌクレオチドに含まれる25merの3'末端または5'末端から4個のヌクレオチド塩基が除去されている21merを含み得る。1つの実施形態では、対応するSTMN2 AONバリエーションは、STMN2親オリゴヌクレオチドに含まれる25merの3'末端および5'末端のそれぞれから3個のヌクレオチド塩基が除去されている19merを含み得る。1つの実施形態では、対応するSTMN2 AONバリエーションは、STMN2親オリゴヌクレオチドに含まれる25merの3'末端または5'末端から6個のヌクレオチド塩基が除去されている19merを含み得る。

10

【0268】

STMN2 AONバリエーションの例となる配列は、表5Aおよび5Bにおいて以下で示される。

20

【0269】

30

40

50

【表 5】

表 5A.STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーション配列

配列番号	AON 配列* (5'→3')	配列番号	Target 配列 (5'→3')
1342	ATCCAATTAAGAGAGAGTGATGG	1367	CCATCACTCTCTCTTAATTGGAT
1343	AATCCAATTAAGAGAGAGTGATG	1368	CATCACTCTCTCTTAATTGGATT
1344	TCCAATTAAGAGAGAGTGATGGG	1369	CCCATCACTCTCTCTTAATTGGA
1345	GAGTCCTGCAATATGAATATAAT	1370	ATTATATTCATATTGCAGGACTC
1346	GTCCTGCAATATGAATATAATTT	1371	AAATTATATTCATATTGCAGGAC
1347	GTCTTCTGCCGAGTCCTGCAATA	1372	TATTGCAGGACTCGGCAGAAGAC
1348	GCACACATGCTCACACAGAGAGC	1373	GCTCTCTGTGTGAGCATGTGTGC
1349	ACACATGCTCACACAGAGAGCCA	1374	TGGCTCTCTGTGTGAGCATGTGT
1350	TCCAATTAAGAGAGAGTGATG	1375	CATCACTCTCTCTTAATTGGA
1351	AATCCAATTAAGAGAGAGTGGA	1376	TCCTCTCTCTCTTAATTGGATT
1352	CAATTAAGAGAGAGTGATGGG	1377	CCCATCACTCTCTCTTAATTG
1353	GTCCTGCAATATGAATATAAT	1378	ATTATATTCATATTGCAGGAC
1354	GAGTCCTGCAATATGAATATA	1379	TATATTCATATTGCAGGACTC
1355	CCTGCAATATGAATATAATTT	1380	AAATTATATTCATATTGCAGG
1356	AGGTCTTCTGCCGAGTCCTGC	1381	GCAGGACTCGGCAGAAGACCT
1357	CTTCTGCCGAGTCCTGCAATA	1382	TATTGCAGGACTCGGCAGAAG
1358	ACACATGCTCACACAGAGAGC	1383	GCTCTCTGTGTGAGCATGTGT
1359	GCACACATGCTCACACAGAGA	1384	TCTCTGTGTGAGCATGTGTGC
1360	ACATGCTCACACAGAGAGCCA	1385	TGGCTCTCTGTGTGAGCATGT
1361	CCAATTAAGAGAGAGTGAT	1386	ATCACTCTCTCTTAATTGG
1362	GAGTCCTGCAATATGAATA	1387	TATTCATATTGCAGGACTC
1363	TGCAATATGAATATAATTT	1388	AAATTATATTCATATTGCA
1364	TCTGCCGAGTCCTGCAATA	1389	TATTGCAGGACTCGGCAGA
1365	GCACACATGCTCACACAGA	1390	TCTGTGTGAGCATGTGTGC
1366	ATGCTCACACAGAGAGCCA	1391	TGGCTCTCTGTGTGAGCAT

*核酸塩基配列の少なくとも 1 つのヌクレオチド結合は、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィナート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホラミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、ホスホロジアミデート(例えば、ホスホロジアミデートモルホリノ(PMO)、3'アミノリボース、または 5'アミノリボースを含む)結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合から選択される。

【 0 2 7 0 】

10

20

30

40

50

【表 6】

表 5B:さらなる STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーション配列

配列番号	AON 配列* (5'→3')
1421	CCTGCAATATGAATATAATTTTA
1422	TGCAATATGAATATAATTTTAAA
1423	CTGCAATATGAATATAATTTTAA
1424	TGCAATATGAATATAATTTTA
1425	TCCTGCAATATGAATATAATTTT
1426	CTGCAATATGAATATAATTTT
1427	AGTCCTGCAATATGAATATAATT
1428	TCCTGCAATATGAATATAATT
1429	TTTCTCTCGAAGGTCTTCTGCCG
1430	CCTTTCTCTCGAAGGTCTTCTGC
1431	CTTTCTCTCGAAGGTCTTCTGCC
1432	CTCTCGCACACACGCACACATGC
1433	CTCTCTCGCACACACGCACACAT
1434	TCTCTCGCACACACGCACACATG
1435	CTCTCGCACACACGCACACAT

*核酸塩基配列の少なくとも 1 つのヌクレオチド結合は、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィナート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホラミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、ホスホロジアミデート(例えば、ホスホロジアミデートモルホリノ(PMO)、3'アミノリボース、または 5'アミノリボースを含む)結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合から選択される。

【0271】

以下の表 6 は、STMN2 AON 配列のさらなるバリエーションを識別する。

【0272】

10

20

30

40

50

【表 7 - 1】

表 6.さらなる STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーション配列

配列番号	AON 配列* (5'→3')
1392	AUCCAAUUAAGAGAGAGUGAUGG
1393	AAUCCAAUUAAGAGAGAGUGAUG
1394	UCCAAUUAAGAGAGAGUGAUGGG
1395	GAGUCCUGCAAUAUGAAUAUAAU
1396	GUCCUGCAAUAUGAAUAUAAUUU
1397	GUCUUCUGCCGAGUCCUGCAAUA
1398	GCACACAUGCUCACACAGAGAGC
1399	ACACAUGCUCACACAGAGAGCCA
1400	UCCAAUUAAGAGAGAGUGAUG
1401	AAUCCAAUUAAGAGAGAGUGA
1402	CAAUUAAGAGAGAGUGAUGGG
1403	GUCCUGCAAUAUGAAUAUAAU
1404	GAGUCCUGCAAUAUGAAUAUA
1405	CCUGCAAUAUGAAUAUAAUUU
1406	AGGUCUUCUGCCGAGUCCUGC
1407	CUUCUGCCGAGUCCUGCAAUA
1408	ACACAUGCUCACACAGAGAGC
1409	GCACACAUGCUCACACAGAGA
1410	ACAUGCUCACACAGAGAGCCA
1411	CCAAUUAAGAGAGAGUGAU
1412	GAGUCCUGCAAUAUGAAUA
1413	UGCAAUAUGAAUAUAAUUU
1414	UCUGCCGAGUCCUGCAAUA
1415	GCACACAUGCUCACACAGA
1416	AUGCUCACACAGAGAGCCA
1436	CCUGCAAUAUGAAUAUAAUUUUA
1437	UGCAAUAUGAAUAUAAUUUUAAA
1438	CUGCAAUAUGAAUAUAAUUUUAA
1439	UGCAAUAUGAAUAUAAUUUUUA
1440	UCCUGCAAUAUGAAUAUAAUUUU
1441	CUGCAAUAUGAAUAUAAUUUU
1442	AGUCCUGCAAUAUGAAUAUAAUU
1443	UCCUGCAAUAUGAAUAUAAUU
1444	UUUCUCUCGAAGGUCUUCUGCCG
1445	CCUUUCUCUCGAAGGUCUUCUGC
1446	CUUUCUCUCGAAGGUCUUCUGCC
1447	CUCUCGCACACACGCACACAUGC
1448	CUCUCUCGCACACACGCACACAU

10

20

30

40

【 0 2 7 3 】

【表 7 - 2】

1449	UCUCUCGCACACACGCACACAUG
1450	CUCUCGCACACACGCACACAU

*核酸塩基配列の少なくとも 1 つのヌクレオシド結合は、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィネート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホラミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、ホスホロジアミデート(例えば、ホスホロジアミデートモルホリノ(PMO)、3'アミノリボース、または 5'アミノリボースを含む)結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合から選択される。

10

【0274】

1つまたは複数のスペーサーを有するアンチセンスオリゴヌクレオチド

様々な実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、1つまたは複数のスペーサーを含む。特定の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、1つのスペーサーを含む。特定の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、2つのスペーサーを含む。特定の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、3つのスペーサーを含む。一般に、スペーサーとは、ヌクレオチド塩基を欠くヌクレオシド置換基を指し、ヌクレオシド糖部分は、非糖置換基によって置換されている。非糖置換基は、核酸塩基を連結する能力を有さないが、ヌクレオシド間連結基を介して、スペーサーに隣接するヌクレオシドの 3' および 5' 位置と連結する能力を有する。

20

【0275】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示される 1つまたは複数のスペーサーを有するオリゴヌクレオチドなどの 1つまたは複数のスペーサーを有するオリゴヌクレオチドは、長さが 5 ～ 100 個のオリゴヌクレオチド単位、例えば、長さが 10 ～ 60 個のオリゴヌクレオチド単位、例えば、長さが 12 ～ 50 個のオリゴヌクレオチド単位、長さが 14 ～ 40 個のオリゴヌクレオチド単位、長さが 10 ～ 30 個のオリゴヌクレオチド単位、例えば、長さが 14 ～ 30 個のオリゴヌクレオチド単位、例えば、長さが 14 ～ 25 個もしくは 15 ～ 22 個のオリゴヌクレオチド単位、または長さが 18、19、20、21、22、23、24、もしくは 25 個のオリゴヌクレオチド単位を有するオリゴヌクレオチドであってもよい。本明細書で使用される場合、「オリゴヌクレオチド単位」とは、ヌクレオシド(例えば、糖および／もしくは核酸塩基を含むヌクレオシド)またはオリゴヌクレオチドのヌクレオシド置換基(例えば、スペーサー)のいずれかを指す。

30

【0276】

特定の実施形態では、1つまたは複数のスペーサーを有するオリゴヌクレオチドは、長さが 25 個のオリゴヌクレオチド単位である。特定の実施形態では、1つまたは複数のスペーサーを有するオリゴヌクレオチドは、長さが 23 個のオリゴヌクレオチド単位である。特定の実施形態では、1つまたは複数のスペーサーを有するオリゴヌクレオチドは、長さが 21 個のオリゴヌクレオチド単位である。特定の実施形態では、1つまたは複数のスペーサーを有するオリゴヌクレオチドは、長さが 19 個のオリゴヌクレオチド単位である。様々な実施形態では、1つまたは複数のスペーサーを有するオリゴヌクレオチドは、長さが少なくとも 18 個、少なくとも 19 個、少なくとも 20 個、少なくとも 21 個、少なくとも 22 個、少なくとも 23 個、少なくとも 24 個、または少なくとも 25 個のオリゴヌクレオチド単位である。様々な実施形態では、1つまたは複数のスペーサーを有するオ

40

50

リゴヌクレオチドは、長さが少なくとも 18 個のオリゴヌクレオチド単位である。様々な実施形態では、1 つまたは複数のスペーサーを有するオリゴヌクレオチドは、長さが少なくとも 19 個のオリゴヌクレオチド単位である。様々な実施形態では、1 つまたは複数のスペーサーを有するオリゴヌクレオチドは、長さが少なくとも 20 個のオリゴヌクレオチド単位である。様々な実施形態では、1 つまたは複数のスペーサーを有するオリゴヌクレオチドは、長さが少なくとも 21 個のオリゴヌクレオチド単位である。様々な実施形態では、1 つまたは複数のスペーサーを有するオリゴヌクレオチドは、長さが少なくとも 22 個のオリゴヌクレオチド単位である。様々な実施形態では、1 つまたは複数のスペーサーを有するオリゴヌクレオチドは、長さが少なくとも 23 個のオリゴヌクレオチド単位である。様々な実施形態では、1 つまたは複数のスペーサーを有するオリゴヌクレオチドは、長さが少なくとも 24 個のオリゴヌクレオチド単位である。様々な実施形態では、1 つまたは複数のスペーサーを有するオリゴヌクレオチドは、長さが少なくとも 25 個のオリゴヌクレオチド単位である。

10

【0277】

様々な実施形態では、STMN2 AON は、配列番号 1451 ~ 1664 のいずれか 1 つの等長部分と少なくとも 80 % の同一性を共有する配列を含む。様々な実施形態では、STMN2 AON は、配列番号 1451 ~ 1664 のいずれかの 1 つの等長部分と少なくとも 85 % の同一性を共有する配列を含む。様々な実施形態では、STMN2 AON は、配列番号 1451 ~ 1664 のいずれかの 1 つの等長部分と少なくとも 90 % の同一性を共有する配列を含む。様々な実施形態では、STMN2 AON は、配列番号 1451 ~ 1664 のいずれかの 1 つの等長部分と少なくとも 95 % の同一性を共有する配列を含む。様々な実施形態では、STMN2 AON は、配列番号 1451 ~ 1664 のいずれかの 1 つの等長部分と少なくとも 100 % の同一性を共有する配列を含む。

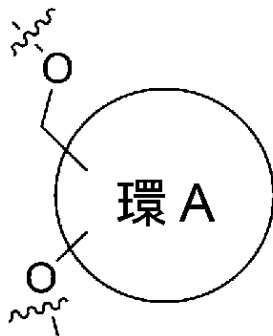
20

【0278】

一部の実施形態では、スペーサーは、式 (X) :

【0279】

【化34】



30

式 (X)

(式中、環 A は、本明細書において定義される通りである) のものである。

【0280】

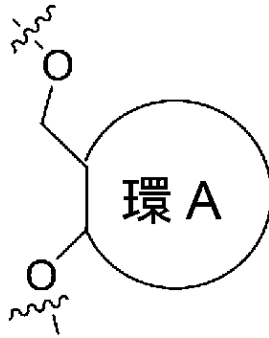
40

一部の実施形態では、スペーサーは、式 (Xa) :

【0281】

50

【化 3 5】



式 (Xa)

10

(式中、環 A は、本明細書において定義される通りであり、 $-\text{CH}_2-\text{O}-$ 基は、 $-\text{O}-$ 基に隣接する環 A 原子である) のものである。

【0 2 8 2】

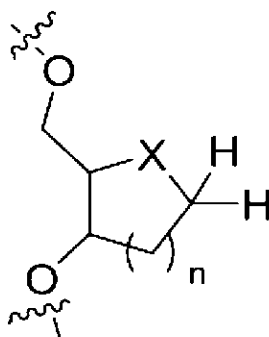
本明細書において一般的に定義される場合、式 (X) および (Xa) の環 A は、任意選択で置換されている 4～8 員の単環式シクロアルキル基 (例えば、環 A は、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチルである) または 4～8 員の単環式ヘテロシクリル基 (ここで、ヘテロシクリル基は、O、S および N から選択される 1 または 2 個のヘテロ原子を含有する (例えば、環 A は、オキセタニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、1,4-ジオキサニル、ピロリジニル、ピペリジニル、モルホリニル、アゼパニルである))。一部の実施形態では、環 A は、テトラヒドロフラニルである。一部の実施形態では、環 A は、テトラヒドロピラニルである。一部の実施形態では、環 A は、ピロリジニルである。一部の実施形態では、環 A は、シクロペンチルである。一部の実施形態では、単環式シクロアルキルまたは単環式ヘテロシクリルは、さらに置換されていない。一部の実施形態では、シクロアルキルまたはヘテロシクリルは、ハロ (例えば、 $-\text{F}$ 、 $-\text{Cl}$)、 $-\text{Ome}$ 、 $-\text{Oet}-\text{O}(\text{CH}_2)\text{Ome}$ 、 $-\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{Ome}$ および CN から選択される 0、1、2 または 3 個の置換基でさらに置換されている。一部の実施形態では、スペーサーは、式 (I)

20

【0 2 8 3】

30

【化 3 6】



式 (I)

40

(式中、

X は、 $-\text{CH}_2-$ および $-\text{O}-$ から選択され；

n は、0、1、2 または 3 である)

によって表される。

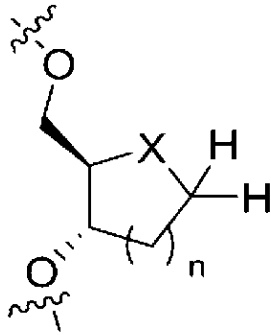
【0 2 8 4】

一部の実施形態では、スペーサーは、式 (I')

【0 2 8 5】

50

【化 3 7】



式 (I')

10

(式中、
 X は、 $-CH_2-$ および $-O-$ から選択され；
 n は、0、1、2 または 3 である)
 によって表される。

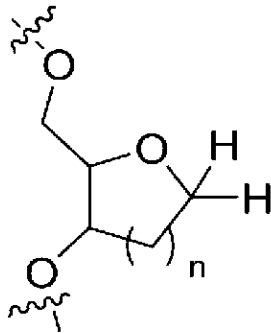
【0 2 8 6】

一部の実施形態では、スペーサーは、式 (I a)

【0 2 8 7】

【化 3 8】

20



式 (Ia)

30

(式中、
 n は、0、1、2 または 3 である)
 によって表される。

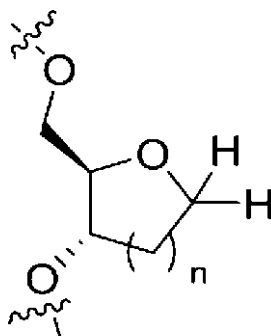
【0 2 8 8】

一部の実施形態では、スペーサーは、式 (I a')

【0 2 8 9】

【化 3 9】

40



式 (Ia')

50

(式中、

n は、0、1、2 または 3 である）
によって表される。

【0290】

本明細書において一般的に定義される場合、X は、 $-CH_2-$ および $-O-$ から選択される。一部の実施形態では、X は、 $-CH_2-$ である。他の実施形態では、X は、 $-O-$ である。

【0291】

本明細書において一般的に定義される場合、n は、0、1、2 または 3 である。一部の実施形態では、n は、0 である。一部の実施形態では、n は、1 または 2 である。一部の実施形態では、n は、1 である。他の実施形態では、n は、2 である。ある特定の実施形態では、n は、3 である。

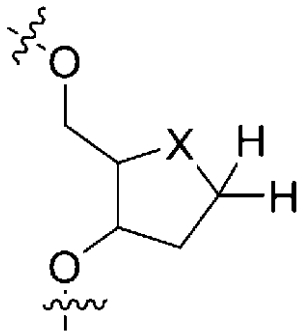
10

【0292】

一部の実施形態では、スペーサーは、式 (II)

【0293】

【化40】



式 (II)

20

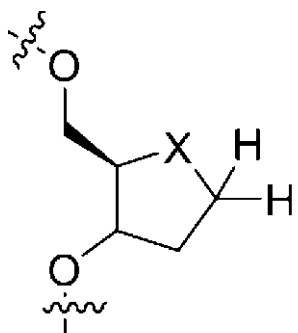
(式中、
X は、 $-CH_2-$ および $-O-$ から選択される)
によって表される。

【0294】

一部の実施形態では、スペーサーは、式 (II')

【0295】

【化41】



式 (II')

40

(式中、
X は、 $-CH_2-$ および $-O-$ から選択される)
によって表される。

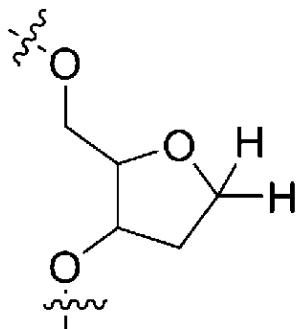
【0296】

一部の実施形態では、スペーサーは、式 (Iia)

【0297】

50

【化 4 2】



式 (Iia)

10

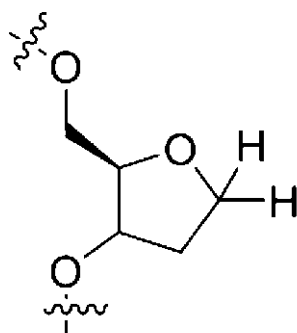
によって表される。

【0 2 9 8】

一部の実施形態では、スペーサーは、式 (I i a ')

【0 2 9 9】

【化 4 3】



式 (Iia')

20

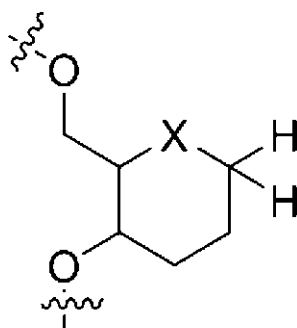
によって表される。

【0 3 0 0】

一部の実施形態では、スペーサーは、式 (I I I)

【0 3 0 1】

【化 4 4】



式 (III)

40

(式中、

X は、 $-CH_2-$ および $-O-$ から選択される)

によって表される。

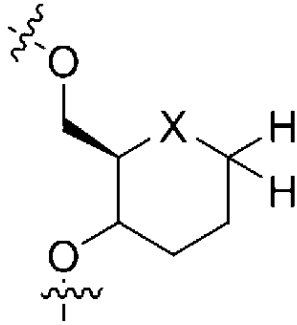
【0 3 0 2】

一部の実施形態では、スペーサーは、式 (I I I ')

【0 3 0 3】

50

【化 4 5】



式 (III')

10

(式中、
X は、 $-CH_2-$ および $-O-$ から選択される)
によって表される。

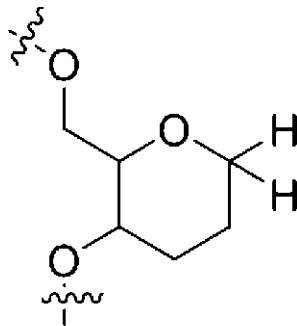
【0304】

一部の実施形態では、スペーサーは、式 (III a)

【0305】

【化 4 6】

20



式 (IIIa)

30

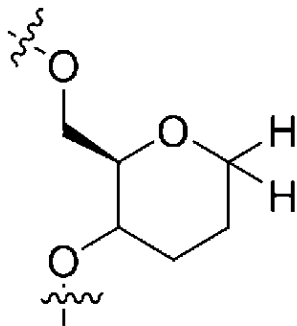
によって表される。

【0306】

一部の実施形態では、スペーサーは、式 (III a')

【0307】

【化 4 7】



式 (IIIa')

40

によって表される。

【0308】

一部の実施形態では、式 (I)、(I')、(Ia)、(Ia')、(II)、(II')、(IIa)、(IIa')、(III)、(III')、(IIIa) および (IIIa')

50

a')の開位置(すなわち、Xの $-CH_2-$ 基を含む、水素原子を独占的に生じると具体的に示されていない位置)は、ハロ(例えば、 $-F$ 、 $-Cl$)、 $-Ome$ 、 $-Oet-O$ (CH_2) Ome 、 $-O(CH_2)_2Ome$ およびCNから選択される0~3個の置換基でさらに置換されている。一部の実施形態では、式(I)、(I')、(Ia)、(Ia')、(II)、(II')、(Iia)、(Iia')、(III)、(III')、(IIIa)および(IIIa')は、さらに置換されていない。

【0309】

以下でさらに記載される場合、1つまたは複数のスペーサーを有するSTMN2オリゴヌクレオチドは、対応するSTMN2親オリゴヌクレオチドと関連して記載される。様々な実施形態では、スペーサーを有するSTMN2オリゴヌクレオチドは、スペーサーが、STMN2親オリゴヌクレオチドにおけるヌクレオシドを置換するという点で、STMN2親オリゴヌクレオチドと異なる。本明細書において以下で記載される場合、STMN2オリゴヌクレオチドの「位置」とは、STMN2オリゴヌクレオチドの5'末端からカウントされた特定の位置を指す。様々な実施形態では、スペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、または25のいずれか1つにおいてヌクレオシドを置換する。特定の実施形態では、スペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置7、8、11、14、16、19、または22においてヌクレオシドを置換する。

【0310】

様々な実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドは、STMN2親オリゴヌクレオチドにおけるヌクレオシドを置換する1つのスペーサーを含む(例えば、1つのスペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの1つのヌクレオシドを置換する)。特定の実施形態では、スペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置9~15のヌクレオシドを置換する。特定の実施形態では、スペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置9~12のヌクレオシドを置換する。特定の実施形態では、スペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置10におけるヌクレオシドを置換する。特定の実施形態では、スペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置11におけるヌクレオシドを置換する。特定の実施形態では、スペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置12におけるヌクレオシドを置換する。特定の実施形態では、スペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置12~16のヌクレオシドを置換する。特定の実施形態では、スペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置15におけるヌクレオシドを置換する。

【0311】

様々な実施形態では、1つのスペーサーを含むSTMN2オリゴヌクレオチドは、2つのセグメントを有し、2つのセグメントの少なくとも1つは、多くとも11個の結合型ヌクレオシドを有する。例えば、STMN2オリゴヌクレオチドは、長さが23個のオリゴヌクレオチド単位であってもよく、スペーサーは、位置12に位置することができる。それゆえ、STMN2オリゴヌクレオチドは、スペーサーによって分けられる2つのセグメントを有し、2つのセグメントの両方が、長さが11個の核酸塩基である。様々な実施形態では、1つのスペーサーを含むSTMN2オリゴヌクレオチドは、2つのセグメントを有し、2つのセグメントの少なくとも1つは、多くとも10個の結合型ヌクレオシドを有する。例えば、STMN2オリゴヌクレオチドは、長さが21個のオリゴヌクレオチド単位であってもよく、スペーサーは、位置11に位置することができる。それゆえ、STMN2オリゴヌクレオチドは、スペーサーによって分けられる2つのセグメントを有し、2つのセグメントの両方が、長さが10個の核酸塩基である。別の例として、STMN2オリゴヌクレオチドは、長さが25個のオリゴヌクレオチド単位であってもよく、スペーサーは、位置15に位置することができる。それゆえ、STMN2オリゴヌクレオチドは、スペーサーによって分けられる2つのセグメントを有し、2つのセグメントの1つは、長さが14個の核酸塩基であり、2つのセグメントの2つ目は、長さが10個の核酸塩基で

ある。

【0312】

様々な実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドは、STMN2親オリゴヌクレオチドにおけるヌクレオシドを置換する2つのスペーサーを含む（例えば、2つのスペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの2つの別々のヌクレオシドを置換する）。様々な実施形態では、第1のスペーサーおよび第2のスペーサーは、オリゴヌクレオチドにおける少なくとも5個の核酸塩基、少なくとも6個の核酸塩基、少なくとも7個の核酸塩基、少なくとも8個の核酸塩基、少なくとも9個の核酸塩基、または少なくとも10個の核酸塩基によって分離される。特定の実施形態では、第1のスペーサーおよび第2のスペーサーは、少なくとも5個の核酸塩基、少なくとも6個の核酸塩基、または少なくとも7個の核酸塩基によって分離される。特定の実施形態では、第1のスペーサーおよび第2のスペーサーは、オリゴヌクレオチドにおいて互いに隣接しない。

10

【0313】

特定の実施形態では、第1のスペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置7～11のヌクレオシドを置換する。様々な実施形態では、第1のスペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置8～11、位置9～11、位置10～11、位置7～10、位置7～9、位置7～8、位置8～10、位置8～9、または位置9～10のヌクレオシドを置換する。特定の実施形態では、第2のスペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置14～22のヌクレオシドを置換する。様々な実施形態では、第2のスペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置15～22、位置16～22、位置17～22、位置18～22、位置19～22、位置20～22、位置21～22、位置15～21、位置16～21、位置17～21、位置18～21、位置19～21、位置20～21、位置15～20、位置16～20、位置17～20、位置18～20、位置19～20、位置15～19、位置16～19、位置17～19、位置18～19、位置15～18、位置16～18、位置17～18、位置15～17、位置16～17、または位置15～16のヌクレオシドを置換する。

20

【0314】

好ましい実施形態では、第1のスペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置7におけるヌクレオシドを置換し、第2のスペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置14におけるヌクレオシドを置換する。好ましい実施形態では、第1のスペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置8におけるヌクレオシドを置換し、第2のスペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置16におけるヌクレオシドを置換する。好ましい実施形態では、第1のスペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置11におけるヌクレオシドを置換し、第2のスペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置22におけるヌクレオシドを置換する。好ましい実施形態では、第1のスペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置9におけるヌクレオシドを置換し、第2のスペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置19におけるヌクレオシドを置換する。

30

【0315】

様々な実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドは、それぞれが、STMN2親オリゴヌクレオチドにおけるヌクレオシドを置換する3つのスペーサーを含む（例えば、3つのスペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの3つの別々のヌクレオシドを置換する）。特定の実施形態では、第1のスペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置7～11のヌクレオシドを置換する。特定の実施形態では、第2のスペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置14～22のヌクレオシドを置換する。特定の実施形態では、第3のスペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置21～24のヌクレオシドを置換する。一部の実施形態では、第1のスペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置2～5のヌクレオシドを置換する。特定の実施形態では、第2のスペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置8～12のヌクレオシドを置換する。特定の実施形態では、第3のスペーサーは、STMN2親オリゴヌクレオチドの位置18

40

50

～ 2 2 のヌクレオシドを置換する。

【 0 3 1 6 】

様々な実施形態では、S T M N 2 オリゴヌクレオチドにおける 3 つのスペーサーは、S T M N 2 オリゴヌクレオチドの 4 つのセグメントのそれぞれが、長さが多くとも 7 個の結合型ヌクレオシドであるように、位置する。例えば、S T M N 2 オリゴヌクレオチドは、第 1 のスペーサーに結びつけられた 7 個の結合型ヌクレオシドを有する第 1 のセグメント、次いで第 1 のスペーサーの一方の末端に結びつけられ、第 2 のスペーサーの別の末端に結びつけられた 7 個の結合型ヌクレオシドを有する第 2 のセグメント、次いで第 2 のスペーサーの一方の末端に結びつけられ、第 3 のスペーサーの別の末端に結びつけられた 6 個の結合型ヌクレオシドを有する第 3 のセグメント、次いで第 3 のスペーサーに結びつけられた 6 個の結合型ヌクレオシドを有する第 4 のセグメントを有してもよい。

10

【 0 3 1 7 】

様々な実施形態では、1 つまたは複数のスペーサーは、1 つまたは複数のアデノシンまたはチミンヌクレオシド（グアニンもしくはシトシンヌクレオシドと対照的に）を置換するように、オリゴヌクレオチドに位置する。例えば、1 つまたは複数のスペーサーは、オリゴヌクレオチドにおける 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、6 つ、7 つ、8 つ、または 9 つのアデノシンまたはチミンヌクレオシドを置換することができる。様々な実施形態では、1 つまたは複数のスペーサーは、1 つまたは複数のグアニンまたはシトシンヌクレオシド（アデノシンもしくはチミンヌクレオシドと対照的に）を置換するように、オリゴヌクレオチドに位置する。例えば、1 つまたは複数のスペーサーは、オリゴヌクレオチドにおける 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、6 つ、7 つ、8 つ、または 9 つのグアニンまたはシトシンヌクレオシドを置換することができる。様々な実施形態では、スペーサーは、等しい数のアデノシン／チミンヌクレオシドおよびグアニン／シトシンヌクレオシドを置換するように、オリゴヌクレオチドに位置する。例えば、オリゴヌクレオチドにおける第 1 のスペーサーは、アデノシン／チミンヌクレオシドを置換してもよく、オリゴヌクレオチドにおける第 2 のスペーサーは、グアニン／シトシンヌクレオシドを置換してもよい。

20

【 0 3 1 8 】

様々な実施形態では、1 つまたは複数のスペーサーは、オリゴヌクレオチドにおける配列内容物を調整するように、オリゴヌクレオチドに位置する。例えば、1 つまたは複数のスペーサーは、スペーサーの少なくとも 1 つが、グアニン基に隣接して位置するように、位置する。様々な実施形態では、スペーサーを有するオリゴヌクレオチドは、グアニン基に隣接する 1 つのスペーサー、グアニン基に隣接する 2 つのスペーサー、グアニン基に隣接する 3 つのスペーサー、グアニン基に隣接する 4 つのスペーサー、またはグアニン基に隣接する 5 つのスペーサーを含むことができる。一実施形態では、オリゴヌクレオチドの 5 ' 末端からカウントする場合、スペーサーは、配列におけるグアニン基の直前である。したがって、様々な実施形態では、スペーサーを有するオリゴヌクレオチドは、グアニン基の直前の 1 つのスペーサー、それぞれがグアニン基の直前の 2 つのスペーサー、それぞれがグアニン基の直前の 3 つのスペーサー、それぞれがグアニン基の直前の 4 つのスペーサー、またはそれぞれがグアニン基の直前の 5 つのスペーサーを含むことができる。一実施形態では、オリゴヌクレオチドの 5 ' 末端からカウントする場合、グアニン基は、スペーサーの直後である。したがって、様々な実施形態では、スペーサーを有するオリゴヌクレオチドは、グアニン基の直後の 1 つのスペーサー、それぞれがグアニン基の直後の 2 つのスペーサー、それぞれがグアニン基の直後の 3 つのスペーサー、それぞれがグアニン基の直後の 4 つのスペーサー、またはそれぞれがグアニン基の直後の 5 つのスペーサーを含むことができる。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドにおけるスペーサーは、グアニン基に隣接するスペーサーの数を最大にするように、位置することができる。

30

40

【 0 3 1 9 】

様々な実施形態では、1 つまたは複数のスペーサーは、1 つまたは複数のスペーサーが、グアニン基に隣接して位置するように、1 つまたは複数のアデノシンまたはチミンヌクレオシドを置換するように、オリゴヌクレオチドに位置する。例えば、2 つのスペーサー

50

は、オリゴヌクレオチドにおけるアデノシンまたはチミンヌクレオチドを置換することができ、2つのスペーサーのそれぞれが、グアニン基に隣接して位置する。

【0320】

様々な実施形態では、1つまたは複数のスペーサーを有するSTMN2オリゴヌクレオチドは、特定のGC含量を有する。本明細書で使用される場合、GC含量（またはグアニン-シトシン内容物）は、グアニン（G）またはシトシン（C）のいずれかである、オリゴヌクレオチドにおける窒素性塩基のパーセンテージである。様々な実施形態では、1つまたは複数のスペーサーを有するSTMN2オリゴヌクレオチドは、少なくとも10%のGC含量、少なくとも20%のGC含量、少なくとも25%のGC含量、少なくとも30%のGC含量、少なくとも35%のGC含量、少なくとも40%のGC含量、少なくとも45%のGC含量、少なくとも50%のGC含量、少なくとも55%のGC含量、少なくとも60%のGC含量、少なくとも65%のGC含量、少なくとも75%のGC含量、少なくとも80%のGC含量、少なくとも85%のGC含量、少なくとも90%のGC含量、または少なくとも95%のGC含量を有する。特定の実施形態では、1つまたは複数のスペーサーを有するSTMN2オリゴヌクレオチドは、少なくとも30%のGC含量を有する。特定の実施形態では、1つまたは複数のスペーサーを有するSTMN2オリゴヌクレオチドは、少なくとも40%のGC含量を有する。様々な実施形態では、1つまたは複数のスペーサーは、GC含量を最大にするように、STMN2オリゴヌクレオチドに位置する。例えば、STMN2オリゴヌクレオチドにおけるスペーサーによる置換のため、グアニンまたはシトシンを選択する代わりに、チミンまたはアデニンは、スペーサーによる置換のため選択することができる。

【0321】

様々な実施形態では、スペーサーを有するSTMN2オリゴヌクレオチドは、1) STMN2オリゴヌクレオチドのそれぞれのセグメントが、多くとも7個の結合型ヌクレオチドを有し、2) 少なくとも2つ、3つ、または4つのスペーサーが、グアニン基に隣接して位置するように、設計される。一部の実施形態では、スペーサーを有するSTMN2オリゴヌクレオチドは、1) STMN2オリゴヌクレオチドのそれぞれのセグメントが、多くとも7個の結合型ヌクレオチドを有し、2) 2つのスペーサーのそれぞれが、グアニン基の前に位置するように、設計される。

【0322】

様々な実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドにおける1つまたは複数のスペーサーの包含は、対応するSTMN2親オリゴヌクレオチドの効果と比較して、全長STMN2タンパク質または全長STMN2 mRNAの回復におけるスペーサーを有するSTMN2オリゴヌクレオチドの有効性を減少しない。様々な実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドにおける1つまたは複数のスペーサーの包含は、対応するSTMN2親オリゴヌクレオチドの効果と比較して、全長STMN2タンパク質または全長STMN2 mRNAの回復におけるスペーサーを有するSTMN2オリゴヌクレオチドの有効性を増加させる。様々な実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドにおける1つまたは複数のスペーサーの包含は、対応するSTMN2親オリゴヌクレオチドの効果と比較して、隠れエクソンを有するSTMN2転写物の量の低減におけるスペーサーを有するSTMN2オリゴヌクレオチドの有効性を減少しない。様々な実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドにおける1つまたは複数のスペーサーの包含は、対応するSTMN2親オリゴヌクレオチドの効果と比較して、隠れエクソンを有するSTMN2転写物の量の低減におけるスペーサーを有するSTMN2オリゴヌクレオチドの有効性を増加させる。

【0323】

表7A、7B、8、および9は、1つまたは複数のスペーサーを有する例となるSTMN2オリゴヌクレオチド、および対応するSTMN2親オリゴヌクレオチドとのその関連性を示す。それぞれのSTMN2オリゴヌクレオチドは、配列名が指定される。本明細書において以下で使用される場合、配列名の命名法は、「X__spA」（1つのスペーサーを有するSTMN2 AONについて）、「X__spA__spB」（2つのスペーサーを

有するSTMN2 AONについて)、または「X__spA__spB__spC」(3つのスペーサーを有するSTMN2 AONについて)として表される。本明細書では、「X」とは、STMN2 AONの長さを指し、「A」とは、第1のスペーサーが位置するSTMN2 AONの位置を指し、「B」とは、第2のスペーサーが位置するSTMN2 AONの位置を指し、存在する場合、「C」とは、第3のスペーサーが位置するSTMN2 AONにおける位置を指す。

【0324】

様々な実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドは、1つのスペーサーを含む。様々な実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドは、23mer、21mer、または19merのいずれか1つなどの、オリゴヌクレオチドバリエーションである。様々な実施形態では、スペーサーの包含は、STMN2オリゴヌクレオチドを2つの別々のセグメントに分け、セグメントの少なくとも1つは、長さが多くとも11個の結合型ヌクレオシドである。様々な実施形態では、スペーサーの包含は、STMN2オリゴヌクレオチドを2つの別々のセグメントに分け、セグメントの少なくとも1つは、長さが多くとも10個の結合型ヌクレオシドである。

【0325】

様々な実施形態では、スペーサーは、オリゴヌクレオチドの位置10～15に位置する。様々な実施形態では、スペーサーは、オリゴヌクレオチドの位置10～12に位置する。特定の実施形態では、スペーサーは、オリゴヌクレオチドの位置10に位置する。特定の実施形態では、スペーサーは、オリゴヌクレオチドの位置11に位置する。特定の実施形態では、スペーサーは、オリゴヌクレオチドの位置12に位置する。特定の実施形態では、スペーサーは、オリゴヌクレオチドの位置15に位置する。1つのスペーサーを有する例となるSTMN2 AONは、表7Aにおいて以下で示される。

【0326】

10

20

30

40

50

【表 8】

表 7A:1 つのスペーサーを有する STMN2 AON の識別。ここで、それぞれの STMN2 AON は、2 つのセグメントを有し、セグメントの少なくとも 1 つは、多くとも 11 個の結合型ヌクレオシドを有する。

配列名	STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーションとの関連性	配列 ID 番号(配列番号)	配列 [*] (式中、X は、STMN2 親オリゴヌクレオチドのヌクレオシドを示し、S _y は、スペーサーの存在を示し、y は、位置を示す)(5'→3')
STMN2 親オリゴヌクレオチド	N/A	1522	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX (25mer)
位置 15 においてスペーサーを有する STMN2 オリゴヌクレオチド(25mer) (STMN2 AON 25_sp15)	25mer の位置 15 におけるヌクレオシドは、スペーサーで置換されている	1523	XXXXXXXXXXXXXXXXXS ₁₅ XXXXXXXXX
STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーション(23mer)	N/A	1524	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX (23mer)
位置 12 においてスペーサーを有する STMN2 オリゴヌクレオチド(23mer) (STMN2 AON 23_sp12)	23mer の位置 12 におけるヌクレオシドは、スペーサーで置換されている	1525	XXXXXXXXXXXXXS ₁₂ XXXXXXXXXX
STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーション (21mer)	N/A	1526	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX (21mer)
位置 11 においてスペーサーを有する STMN2 オリゴヌクレオチド(21mer) (STMN2 AON 21_sp11)	21mer の位置 11 におけるヌクレオシドは、スペーサーで置換されている	1527	XXXXXXXXXXXXXS ₁₁ XXXXXXXXXX
STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーション (19mer)	N/A	1528	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX (19mer)
位置 10 においてスペーサーを有する STMN2 オリゴヌクレオチド(19mer) (STMN2 AON 19_sp10)	19mer の位置 10 におけるヌクレオシドは、スペーサーで置換されている	1529	XXXXXXXXXS ₁₀ XXXXXXXXXX

*核酸塩基配列の少なくとも 1 つのヌクレオシド結合は、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィナート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホラミドチオエート結合、ホスホロジアミデート(例えば、ホスホロジアミデートモルホリノ(PMO)、3'アミノリボース、または 5'アミノリボースを含む)結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合から選択される。

【0327】

様々な実施形態では、STMN2 オリゴヌクレオチドは、2 つのスペーサーを含む。様々な実施形態では、スペーサーの包含は、STMN2 オリゴヌクレオチドを 3 つの別々のセグメントに分け、セグメントの少なくとも 1 つは、長さが多くとも 7 個の結合型ヌクレオシドである。例となる、2 つのスペーサーを有する STMN2 AON は、表 7 B において以下で示される。

【0328】

10

20

30

40

50

【表 9 - 1】

表 7B:2 つのスペーサーを有する STMN2 AON の識別。ここで、それぞれの STMN2 AON は、3 つのセグメントを有し、セグメントの少なくとも 1 つは、多くとも 7 個の結合型ヌクレオシドを有する。

配列名	STMN2 親オリゴヌクレオチドとの関連性	配列 ID 番号(配列番号)	配列 [*] (式中、X は、STMN2 親オリゴヌクレオチドのヌクレオシドを示し、S _y は、スペーサーの存在を示し、y は、位置を示す)(5'→3')
STMN2 親オリゴヌクレオチド	N/A	1530	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
位置 11 および 22 においてスペーサーを有する STMN2 オリゴヌクレオチド (STMN2 AON 25_sp11sp22)	位置 11 および 22 におけるヌクレオシドはそれぞれ、スペーサーで置換されている	1531	XXXXXXXXXXS ₁₁ XXXXXXXXXXS ₂₂ XXX
位置 7 および 14 においてスペーサーを有する STMN2 オリゴヌクレオチド (STMN2 AON 25_sp7sp14)	位置 7 および 14 におけるヌクレオシドはそれぞれ、スペーサーで置換されている	1532	XXXXXXS ₇ XXXXXXS ₁₄ XXXXXXXXXXXX
位置 8 および 19 においてスペーサーを有する STMN2 オリゴヌクレオチド (STMN2 AON 25_sp8sp19)	位置 8 および 19 におけるヌクレオシドはそれぞれ、スペーサーで置換されている	1533	XXXXXXS ₈ XXXXXXXXXXS ₁₉ XXXXXX
位置 8 および 14 においてスペーサーを有する STMN2 オリゴヌクレオチド (STMN2 AON 25_sp8sp14)	位置 8 および 14 におけるヌクレオシドはそれぞれ、スペーサーで置換されている	1534	XXXXXXS ₈ XXXXXXS ₁₄ XXXXXXXXXXXX
位置 9 および 14 においてスペーサーを有する STMN2 オリゴヌクレオチド (STMN2 AON 25_sp9sp14)	位置 9 および 14 におけるヌクレオシドはそれぞれ、スペーサーで置換されている	1535	XXXXXXS ₉ XXXXS ₁₄ XXXXXXXXXXXX

【 0 3 2 9 】

10

20

30

40

50

【表 9 - 2】

位置 10 および 14 においてスパーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp10sp14)	位置 10 および 14 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スパー サーで置換され ている	1536	XXXXXXXXXXS ₁₀ XXXS ₁₄ XXXXXXXXXXXX
位置 11 および 14 においてスパーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp11sp14)	位置 11 および 14 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スパー サーで置換され ている	1537	XXXXXXXXXXS ₁₁ XXS ₁₄ XXXXXXXXXXXX
位置 8 および 15 においてスパーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp8sp15)	位置 8 および 15 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スパー サーで置換され ている	1538	XXXXXXXS ₈ XXXXXXS ₁₅ XXXXXXXXXXXX
位置 9 および 15 においてスパーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp9sp15)	位置 9 および 15 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スパー サーで置換され ている	1539	XXXXXXXXXS ₉ XXXXXS ₁₅ XXXXXXXXXXXX
位置 10 および 15 においてスパーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp10sp15)	位置 10 および 15 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スパー サーで置換され ている	1540	XXXXXXXXXXS ₁₀ XXXXS ₁₅ XXXXXXXXXXXX
位置 11 および 15 においてスパーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp11sp15)	位置 11 および 15 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スパー サーで置換され ている	1541	XXXXXXXXXXS ₁₁ XXXS ₁₅ XXXXXXXXXXXX

【 0 3 3 0 】

10

20

30

40

50

【表 9 - 3】

位置 8 および 16 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp8sp16)	位置 8 および 16 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1542	XXXXXXXXS ₈ XXXXXXXXS ₁₆ XXXXXXXX
位置 9 および 16 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp9sp16)	位置 9 および 16 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1543	XXXXXXXXS ₉ XXXXXXXXS ₁₆ XXXXXXXX
位置 10 および 16 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp10sp16)	位置 10 および 16 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1544	XXXXXXXXXS ₁₀ XXXXXS ₁₆ XXXXXXXX
位置 11 および 16 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp11sp16)	位置 11 および 16 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1545	XXXXXXXXXS ₁₁ XXXXS ₁₆ XXXXXXXX
位置 8 および 17 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp8sp17)	位置 8 および 17 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1546	XXXXXXXXS ₈ XXXXXXXXS ₁₇ XXXXXXXX
位置 9 および 17 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp9sp17)	位置 9 および 17 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1547	XXXXXXXXS ₉ XXXXXXXXS ₁₇ XXXXXXXX

【 0 3 3 1 】

10

20

30

40

50

【表 9 - 4】

位置 10 および 17 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp10sp17)	位置 10 および 17 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1548	XXXXXXXXXXS ₁₀ XXXXXXXXS ₁₇ XXXXXXXX
位置 11 および 17 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp11sp17)	位置 11 および 17 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1549	XXXXXXXXXXS ₁₁ XXXXXS ₁₇ XXXXXXXX
位置 8 および 18 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp8sp18)	位置 8 および 18 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1550	XXXXXXXXS ₈ XXXXXXXXXXS ₁₈ XXXXXXX
位置 9 および 18 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp9sp18)	位置 9 および 18 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1551	XXXXXXXXS ₉ XXXXXXXXXXS ₁₈ XXXXXXX
位置 10 および 18 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp10sp18)	位置 10 および 18 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1552	XXXXXXXXXXS ₁₀ XXXXXXXXS ₁₈ XXXXXXX
位置 11 および 18 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp11sp18)	位置 11 および 18 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1553	XXXXXXXXXXS ₁₁ XXXXXS ₁₈ XXXXXXX

【 0 3 3 2 】

10

20

30

40

50

【表 9 - 5】

位置 9 および 19 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp9sp19)	位置 9 および 19 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1554	XXXXXXXXXS ₉ XXXXXXXXXS ₁₉ XXXXXX
位置 10 および 19 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp10sp19)	位置 10 および 19 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1555	XXXXXXXXXS ₁₀ XXXXXXXXXS ₁₉ XXXXXX
位置 11 および 19 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp11sp19)	位置 11 および 19 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1556	XXXXXXXXXS ₁₁ XXXXXXXXXS ₁₉ XXXXXX
位置 9 および 20 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp9sp20)	位置 9 および 20 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1557	XXXXXXXXXS ₉ XXXXXXXXXS ₂₀ XXXXXX
位置 10 および 20 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp10sp20)	位置 10 および 20 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1558	XXXXXXXXXS ₁₀ XXXXXXXXXS ₂₀ XXXXXX
位置 11 および 20 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp11sp20)	位置 11 および 20 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1559	XXXXXXXXXS ₁₁ XXXXXXXXXS ₂₀ XXXXXX

【 0 3 3 3 】

10

20

30

40

50

【表 9 - 6】

位置 10 および 21 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp10sp21)	位置 10 および 21 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1560	XXXXXXXXXXS ₁₀ XXXXXXXXXXS ₂₁ XXXX
位置 11 および 21 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp11sp21)	位置 11 および 21 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1561	XXXXXXXXXXS ₁₁ XXXXXXXXXXS ₂₁ XXXX
位置 4 および 15 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp4sp15)	位置 4 および 15 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1562	XXXS ₄ XXXXXXXXXXS ₁₅ XXXXXXXXXX
位置 7 および 19 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp7sp19)	位置 7 および 19 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1563	XXXXXXS ₇ XXXXXXXXXXS ₁₉ XXXXXX
位置 7 および 18 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp7sp18)	位置 7 および 18 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1564	XXXXXXS ₇ XXXXXXXXXXS ₁₈ XXXXXX

【 0 3 3 4 】

10

20

30

40

50

【表 9 - 7】

位置 9 および 21 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチド (STMN2 AON 25_sp9sp21)	位置 9 および 21 におけるヌ クレオシドはそ れぞれ、スペー サーで置換され ている	1565	XXXXXXXXXS ₉ XXXXXXXXXXXXXS ₂₁ XXXX
--	--	------	---

*核酸塩基配列の少なくとも 1 つのヌクレオシド結合は、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィナート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホラミドチオエート結合、ホスホロジアミデート(例えば、ホスホロジアミデートモルホリノ(PMO)、3'アミノリボース、または 5'アミノリボースを含む)結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合から選択される。

10

20

【0335】

様々な実施形態では、STMN2 オリゴヌクレオチドは、3 つのスペーサーを含む。3 つのスペーサーの包含は、STMN2 オリゴヌクレオチドを 4 つの別々のセグメントに分ける。様々な実施形態では、3 つのスペーサーは、STMN2 オリゴヌクレオチドのセグメントのそれぞれが、長さが多くとも 7 個の結合型ヌクレオシドであるように、STMN2 オリゴヌクレオチドの異なる位置に位置する。3 つのスペーサーを有する例となる STMN2 AON は、表 8 において以下で示される。

【0336】

30

40

50

【表 10 - 1】

表 8:3 つのスペーサーを有する STMN2 AON または AON バリエーションの識別。ここで、それぞれの STMN2 AON は、4 つのセグメントを有し、それぞれのセグメントは、多くとも 7 個の結合型ヌクレオシドを有する。

配列名	STMN2 親オリゴヌクレオチドとの関連性	配列 ID 番号 (配列番号)	配列* (式中、X は、STMN2 親オリゴヌクレオチドのヌクレオシドを示し、S _y は、スペーサーの存在を示し、y は、位置を示す)(5'→3')
位置 8 および 16 においてスペーサーを有する STMN2 オリゴヌクレオチド and 24 (STMN2 AON 25_sp8sp16sp24)	位置 8 および 16 および 24 におけるヌクレオシドは、スペーサーで置換されている	1566	XXXXXXXXS ₈ XXXXXXXXS ₁₆ XXXXXXXXS ₂₄ X
位置 8 および 16 および 23 においてスペーサーを有する STMN2 オリゴヌクレオチド (STMN2 AON 25_sp8sp16sp23)	位置 8 および 16 および 23 におけるヌクレオシドは、スペーサーで置換されている	1567	XXXXXXXXS ₈ XXXXXXXXS ₁₆ XXXXXXXXS ₂₃ XX
位置 2 および 10 および 18 においてスペーサーを有する STMN2 オリゴヌクレオチド (STMN2 AON 25_sp8sp16sp23)	位置 2 および 10 および 18 におけるヌクレオシドは、スペーサーで置換されている	1568	XS ₂ XXXXXXXXS ₁₀ XXXXXXXXS ₁₈ XXXXXXX
位置 3 および 10 および 18 においてスペーサーを有する STMN2 オリゴヌクレオチド (STMN2 AON 25_sp8sp16sp23)	位置 3 および 10 および 18 におけるヌクレオシドは、スペーサーで置換されている	1569	XXS ₃ XXXXXXXXS ₁₀ XXXXXXXXS ₁₈ XXXXXXX
位置 4 および 12 および 19 においてスペーサーを有する STMN2 オリゴヌクレオチド (STMN2 AON 25_sp4sp12sp19)	位置 4 および 12 および 19 におけるヌクレオシドは、スペーサーで置換されている	1570	XXXS ₄ XXXXXXXXS ₁₂ XXXXXXXXS ₁₉ XXXXXXX

【0337】

10

20

30

40

50

【表 10 - 2】

位置8および13お よび18においてス ペーサーを有する STMN2 オリゴヌク レオチド(STMN2 AON 25_sp8sp13sp18)	位置 8 および 13 および 18 におけるヌク レオシドは、 スペーサーで 置換されてい る	1571	XXXXXXXXS ₈ XXXXS ₁₃ XXXXS ₁₈ XXXXXXXX
位置5および13お よび21においてス ペーサーを有する STMN2 オリゴヌク レオチド(STMN2 AON 25_sp5sp13sp21)	位置 5 および 13 および 21 におけるヌク レオシドは、 スペーサーで 置換されてい る	1572	XXXXS ₅ XXXXXXXXS ₁₃ XXXXXXXXS ₂₁ XXXX
位置7および13お よび19においてス ペーサーを有する STMN2 オリゴヌク レオチド(STMN2 AON 25_sp7sp13sp19)	位置 7 および 13 および 19 におけるヌク レオシドは、 スペーサーで 置換されてい る	1573	XXXXXXXXS ₇ XXXXS ₁₃ XXXXS ₁₉ XXXXXX
位置6および13お よび20においてス ペーサーを有する STMN2 オリゴヌク レオチド(STMN2 AON 25_sp6sp13sp20)	位置 6 および 13 および 20 におけるヌク レオシドは、 スペーサーで 置換されてい る	1574	XXXXXS ₆ XXXXXXXXS ₁₃ XXXXXXXXS ₂₀ XXXXX
位置8および11お よび19においてス ペーサーを有する STMN2 オリゴヌク レオチド(STMN2 AON 25_sp8sp11sp19)	位置 8 および 11 および 19 におけるヌク レオシドは、 スペーサーで 置換されてい る	1575	XXXXXXXXS ₈ XXS ₁₁ XXXXXXXXS ₁₉ XXXXXX
位置8および11お よび16においてス ペーサーを有する STMN2 オリゴヌク レオチド(STMN2 AON 23_sp8sp11sp16)	位置 8 および 11 および 16 におけるヌク レオシドは、 スペーサーで 置換されてい る	1576	XXXXXXXXS ₈ XXS ₁₁ XXXXS ₁₆ XXXXXXXX

【 0 3 3 8 】

10

20

30

40

50

【表 10-3】

位置 7 および 14 および 22 におい てスペーサーを 有する STMN2 オリゴヌクレオ チド(STMN2 AON 23_sp7sp14sp22)	位置 7 および 14 および 22 におけるヌク レオシドは、 スペーサーで 置換されてい る	1577	XXXXXXS ₇ XXXXXXS ₁₄ XXXXXXS ₂₂ XXX
--	--	------	--

*核酸塩基配列の少なくとも 1 つのヌクレオシド結合は、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィナート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホラミドチオエート結合、ホスホロジアミデート(例えば、ホスホロジアミデートモルホリノ(PMO)、3'アミノリボース、または 5'アミノリボースを含む)結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合から選択される。

【0339】

様々な実施形態では、1 つまたは複数のスペーサーを有する STMN2 AON は、表 7 B および 8 において記載される STMN2 AON と比較して、長さが低減される。例えば、このような STMN2 AON は、1 つまたは複数のスペーサーを有する STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーションであってもよい。様々な実施形態では、1 つまたは複数のスペーサーを有する STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーションは、23mer、21mer、または 19mer である。様々な実施形態では、STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーションは、STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーションが、2 つのスペーサーによって分けられる 3 つのセグメントを含むように、2 つのスペーサーを含む。様々な実施形態では、3 つのセグメントの少なくとも 1 つは、多くとも 7 個の結合型ヌクレオシドを有する。様々な実施形態では、3 つのセグメントのそれぞれは、多くとも 7 個の結合型ヌクレオシドを有する。例となる、1 つまたは複数のスペーサーを有する STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーションは、表 9 において以下で示される。

【0340】

10

20

30

40

50

【表 1 1 - 1】

表 9:2 つのスペーサーを有する STMN2 AON バリエント。ここで、それぞれの STMN2 AON バリエントは、3 つのセグメントを有し、それぞれのセグメントは、多くとも 7 個の結合型ヌクレオシドを有する。

配列名	STMN2 オリゴヌクレオチドバリエントとの関連性	配列 ID 番号 (配列番号)	配列 [*] (式中、X は、STMN2 オリゴヌクレオチドバリエントのヌクレオシドを示し、S _y は、スペーサーの存在を示し、y は、位置を示す)(5'→3')
STMN2 オリゴヌクレオチドバリエント (23mer)	N/A	1578	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX (23mer)
位置 8 および 16 においてスペーサーを有する <u>STMN2 オリゴヌクレオチドバリエント</u> (23mer)(STMN2 AON バリエント 23 _{sp8sp16})	位置 8 および 16 におけるヌクレオシドはスペーサーで置換されている	1579	XXXXXXXXS ₈ XXXXXXXXS ₁₆ XXXXXXX
STMN2 オリゴヌクレオチドバリエント (21mer)	N/A	1580	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX (21mer)
位置 5 および 12 においてスペーサーを有する STMN2 オリゴヌクレオチドバリエント (21mer)(STMN2 AON バリエント 21 _{sp5sp12})	位置 5 および 12 におけるヌクレオシドはスペーサーで置換されている	1581	XXXXS ₅ XXXXXS ₁₂ XXXXXXXXX
位置 8 および 16 においてスペーサーを有する STMN2 オリゴヌクレオチドバリエント (21mer)(STMN2 AON バリエント 21 _{sp8sp16})	位置 8 および 16 におけるヌクレオシドはスペーサーで置換されている	1582	XXXXXXXXS ₈ XXXXXXXXS ₁₆ XXXXX

【 0 3 4 1 】

10

20

30

40

50

【表 1 1 - 2】

位置6および14 においてスパーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチドバリア ント (21mer)(STMN2 AON バリエント 21_sp6sp14)	位置 6 および 14 におけるヌ クレオシドは スパーサーで 置換されてい る	1583	XXXXXS ₆ XXXXXXXXS ₁₄ XXXXXXX	10
位置8および14 においてスパーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチドバリア ント (21mer)(STMN2 AON バリエント 21_sp8sp14)	位置 8 および 14 におけるヌ クレオシドは スパーサーで 置換されてい る	1584	XXXXXXXXS ₈ XXXXXS ₁₄ XXXXXXXX	
位置8および14 においてスパーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチドバリア ント (21mer)(STMN2 AON バリエント 21_sp8sp14)	位置 6 および 20 におけるヌ クレオシドは スパーサーで 置換されてい る	1585	XXXXXS ₆ XXXXXXXXXXXXXXXXXS ₂₀ X	20
STMN2 オリゴヌ クレオチドバリア ント (19mer)	N/A	1586	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX (19mer)	30
位置5および12 においてスパーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチドバリア ント (19mer)(STMN2 AON バリエント 19_sp5sp12)	位置 5 および 12 におけるヌ クレオシドは スパーサーで 置換されてい る	1587	XXXXS ₅ XXXXXS ₁₂ XXXXXXX	40

【 0 3 4 2 】

【表 1 1 - 3】

位置8および15 においてスペーサ ーを有する STMN2 オリゴヌ クレオチドバリア ント (19mer)(STMN2 AON バリエーション 19_sp8sp15)	位置 8 および 15 におけるヌ クレオシドは スペーサーで 置換されてい る	1588	XXXXXXXXS ₈ XXXXXXXXS ₁₅ XXXX
--	---	------	---

10

*核酸塩基配列の少なくとも 1 つのヌクレオシド結合は、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィナート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホラミドチオエート結合、ホスホロジアミデート(例えば、ホスホロジアミデートモルホリノ(PMO)、3'アミノリボース、または5'アミノリボースを含む)結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合から選択される。

20

【0 3 4 3】

STMN2 オリゴヌクレオチドの性能

一般に、STMN2 オリゴヌクレオチドおよび／またはSTMN2 親オリゴヌクレオチド(例えば、配列番号1～466、配列番号893～1338、配列番号1342～1366、および配列番号1392～1664のいずれかの配列を有するSTMN2 オリゴヌクレオチド)は、機能的STMN2 タンパク質(例えば、全長STMN2)を産生するために翻訳する能力を有するSTMN2 mRNAの発現のレベルを増加させるか、回復させるか、低減するか、または安定化するために、配列番号1339または配列番号1341に対して、少なくとも90%(例えば、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%)の同一性を共有する配列を含むSTMN2 転写物(例えば、隠れエクソンを含むSTMN2 プレ-mRNA)を標的とする。様々な実施形態では、STMN2 AONは、完全長STMN2 タンパク質の少なくとも20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、または90%の増加を呈することができる。様々な実施形態では、STMN2 AONは、完全長STMN2 タンパク質の少なくとも100%、200%、300%、または400%の増加を呈することができる。一部の実施形態では、完全長STMN2 タンパク質の増加割合(%)は、TDP43 アンチセンスオリゴヌクレオチドを使用して達成される、完全長STMN2 タンパク質のレベル低下との比較における増加である。例えば、TDP43 アンチセンスオリゴヌクレオチドは、完全長STMN2 タンパク質を枯渇させ、その後にSTMN2 AONを使用して完全長STMN2 タンパク質を増加させるのに使用可能である。

30

40

【0 3 4 4】

一部の実施形態では、STMN2 AONは、全長STMN2 タンパク質の少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、または100%のレスキューを示し得る。一部の実施形態では、完全長STMN2 のレスキュー割合(%)とは、TDP43 アンチセンスオリゴヌクレオチドを使用して枯渇させ、そしてSTMN2 AONを使用して処置した後の、陰性対照(例えば、枯渇または処置が施さ

50

れなかった細胞、または媒体溶液中で処置された細胞)との比較における、完全長 S T M N 2 の割合 (%) を指す。

【0345】

改変

ヌクレオシドは、塩基-糖の組合せである。ヌクレオシドの核酸塩基(塩基としても知られている)部分は、通常は複素環塩基部分である。ヌクレオチドは、ヌクレオシドの糖部分と共有結合したリン酸基をさらに含むヌクレオシドである。ペントフラノシル糖を含むヌクレオシドの場合、リン酸基は、糖の2'、3'、または5'ヒドロキシル部分と結合することができる。オリゴヌクレオチドは、隣接するヌクレオシドが相互に共有結合して、直鎖状のポリマーオリゴヌクレオチドを形成することを通じて形成される。オリゴヌクレオチド構造において、リン酸基は、オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間結合を形成するものとして一般的に引用される。

10

【0346】

アンチセンス化合物に対する改変は、ヌクレオシド間結合、糖部分、または核酸塩基に対する置換または変更を含む。改変型のアンチセンス化合物は、望ましい特性、例えば細胞内取込みの増強、核酸標的に対する親和性の増強、ヌクレアーゼ存在下での安定性向上、または阻害活性の増加等の理由から、天然型よりも多くの場合好ましい。

【0347】

短縮またはトランケートされたアンチセンスオリゴヌクレオチドのその標的核酸に対する結合親和性を増加させるために、化学的に改変されたヌクレオシドも採用され得る。したがって、そのように化学的に改変されたヌクレオシドを有するより短いアンチセンス化合物を用いても、多くの場合、匹敵する結果を得ることができる。

20

【0348】

改変型ヌクレオシド間結合

RNAおよびDNAの天然に存在するヌクレオシド間結合は、3'から5'のホスホジエステル結合である。1つまたは複数の改変された、すなわち天然に存在しないヌクレオシド間結合を有するアンチセンス化合物は、望ましい特性、例えば細胞内取込みの増強、標的核酸に対する親和性の増強、およびヌクレアーゼ存在下での安定性向上等の理由から、天然に存在するヌクレオシド間結合を有するアンチセンス化合物よりも高頻度で選択される。

30

【0349】

改変型ヌクレオシド間結合を有するオリゴヌクレオチドは、リン原子を保持するヌクレオシド間結合、ならびにリン原子を有さないヌクレオシド間結合を含む。代表的なリン含有ヌクレオシド間結合として、ホスホジエステル、ホスホトリエステル、メチルホスホネート、ホスホルアミデート、およびホスホロチオエートが挙げられるが、ただしこれらに限定されない。垂リン酸含有結合および非垂リン酸含有結合の調製方法が、周知である。

【0350】

ある特定の実施形態では、S T M N 2 核酸を標的とするアンチセンス化合物は、1つまたは複数の改変型ヌクレオシド間結合を含む。ある特定の実施形態では、改変型ヌクレオシド間結合は、アンチセンス化合物全体にわたり点在する。ある特定の実施形態では、改変型ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合である。ある特定の実施形態では、アンチセンス化合物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である。ある特定の実施形態では、S T M N 2 核酸を標的とするアンチセンス化合物は、少なくとも1つのホスホジエステル結合および少なくとも1つのホスホロチオエート結合を含む。

40

【0351】

改変型糖部分

アンチセンス化合物は、任意選択で、糖基が改変されている1つまたは複数のヌクレオシドを含有することができる。そのような糖改変型ヌクレオシドは、アンチセンス化合物に対して、ヌクレアーゼ安定性の増強、結合親和性の増強、またはいくつかのその他の有

50

益な生物学的特性を付与し得る。ある特定の実施形態では、ヌクレオシドは、化学的に改変されたリボフラノース環部分を含む。化学的に修飾されたリボフラノース環の例としては、置換基の付加（5'および2'置換基、二環式核酸（BNA）を形成するための非ジェミナル環原子の架橋、リボシル環酸素原子のS、N（R）、もしくはC（R₁）（R₂）（R、R₁およびR₂は、それぞれ独立して、H、C₁-C₁₂アルキルまたは保護基）での置換を含む）およびその組合せが挙げられるが、ただしこれらに限定されない。化学的に修飾された改変型糖の例としては、2'-F-5'-メチル置換されたヌクレオシド（他の開示された5'、2'-ビス置換されたヌクレオシドについては、2008年8月21日に公開された国際公開第2008/101157号パンフレットを参照）または2'位置においてさらなる置換を有するSでのリボシル環酸素原子の置換（2005年6月16日に公開された、米国特許出願公開第2005-0130923号明細書を参照）、または代わりにBNAの5'置換（2007年11月22日に公開された国際公開第2007/134181号パンフレットを参照、ここで、LNAは、例えば、5'-メチルまたは5'-ビニル基で置換されている）が挙げられる。

10

【0352】

改変型糖部分を有するヌクレオシドの例としては、5'-ビニル、5'-メチル（Rまたは5）、4'-S、2'-F、2'-OCH₂CH₂CH₃、2'-OCH₂CH₂Fおよび2'-O（CH₂）₂OCH₃置換基を含むヌクレオシドが挙げられるが、ただしこれらに限定されない。2'位置における置換基はまた、アリル、アミノ、アジド、チオ、O-アリル、O-C₁-C₁₀アルキル、OCF₃、OCH₂F、O（CH₂）₂SCH₃、O（CH₂）₂-O-N（R_m）（R_n）、O-CH₂-C（=O）-N（R_m）（R_n）、およびO-CH₂-C（=O）-N（R₁）-（CH₂）₂-N（R_m）（R_n）-（式中、それぞれのR₁、R_mおよびR_nは、独立して、Hまたは置換されているか、もしくは置換されていないC₁-C₁₀アルキルである）から選択することができる。

20

【0353】

改変型糖部分のさらなる例としては、2'-Ome改変型糖部分、二環式糖部分、2'-O-（2-メトキシエチル）（2'-MOE）、2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオシド、2'-フルオロ-β-D-アラビノヌクレオシド、ロックド核酸（LNA）、拘束エチル2'-4'-架橋核酸（cEt）、S-cEt、tcDNA、ヘキシトール核酸（HNA）、および三環式アナログ（例えば、tcDNA）が挙げられる。

30

【0354】

本明細書で使用される場合、「二環式ヌクレオシド」とは、二環式糖部分を含む改変型ヌクレオシドを指す。二環式ヌクレオシドの例としては、4'と2'リボシル環原子の間の架橋を含むヌクレオシドが挙げられるが、ただしこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、本明細書において提供されるアンチセンス化合物は、4'から2'への架橋を含む1つまたは複数の二環式ヌクレオシドを含む。このような4'から2'への架橋二環式ヌクレオシドの例としては、式：4'-（CH₂）-O-2'（LNA）；4'-（CH₂）-S-2'；4'-（CH₂）₂-O-2'（ENA）；4'-CH（CH₂）-O-2'ならびに4'-CH（CH₂OCH₃）-O-2'（およびそのアナログ、2008年7月15日に発行された米国特許第7,399,845号を参照）；4'-C（CH₃）（CH₃）-O-2'（およびそのアナログ、2009年1月8日に公開された国際特許出願公開第2009/006478号パンフレットを参照）；4'-CH₂-N（OCH₃）-2'（およびそのアナログ、2008年12月11日に公開された、国際特許出願公開第2008/150729号パンフレットを参照）；4'-CH₂-O-N（CH₃）-2'（2004年9月2日に公開された、米国特許出願公開第2004-0171570号を参照）；4'-CH₂-N（R）-O-2'（式中、Rは、H、C₁-C₁₂アルキル、または保護基である）（2008年9月23日発行された米国特許第7,427,672号を参照）；4'-CH₂-C（H）（CH₃）-2'（Chattopadhyaya et al., J. Org. Chem., 2009, 74, 118-134を参照）；ならびに4'-CH₂-C-（=CH₂）-2'（

40

50

およびそのアナログ、2008年12月8日に公開された、国際特許出願公開第2008/154401号パンフレットを参照)の1つが挙げられるが、ただしこれらに限定されない。

【0355】

二環式ヌクレオシドと関連するさらなる報告は、公表文献にも見出すことができる(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., 2007, 129(26) 8362-8379; Elayadi et al., Curr. Opinion Invest. Drugs, 2001, 2, 558-561; Braasch et al., Chem. Biol., 2001, 8, 1-7; and Orum et al., Curr. Opinion Mol. Ther., 2001, 3, 239-243; 米国特許第6,268,490号明細書; 同第6,525,191号明細書; 同第6,670,461号明細書; 同第6,770,748号明細書; 同第6,794,499号明細書; 同第7,034,133号明細書; 同第7,053,207号明細書; 同第7,399,845号明細書; 同第7,547,684号明細書; および同第7,696,345号明細書; 米国特許公開第2008-0039618号明細書; 同第2009-0012281号明細書; 米国特許シリアル番号第60/989,574号明細書; 同第61/026,995号明細書; 同第61/026,998号明細書; 同第61/056,564号明細書; 同第61/086,231号明細書; 同第61/097,787号明細書; および同第61/099,844号明細書; PCT国際出願公開第1994/014226号パンフレット; 国際公開第2004/106356号パンフレット; 国際公開第2005/021570号パンフレット; 国際公開第2007/134181号パンフレット; 国際公開第2008/150729号パンフレット; 国際公開第2008/154401号パンフレット; および国際公開第2009/006478号パンフレットを参照)。上記二環式ヌクレオシドのそれぞれは、例えば、 α -L-リボフラノースおよび β -D-リボフラノースを含む、1つまたは複数の立体化学的糖コンフィギュレーションを有するように調製され得る(国際公開第99/14226号パンフレットとして1999年3月25日に公開されたPCT国際出願PCT/DK第98/00393号パンフレットを参照)。

【0356】

ある特定の実施形態では、BNAヌクレオシドの二環式糖部分としては、ペントフラノシル糖部分の4'と2'位置の間に少なくとも1つの架橋を有する化合物(ここで、このような架橋は、 $-[C(R_a)(R_b)]_n-$ 、 $-C(R_a)=C(R_b)-$ 、 $-C(R_a)=N-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=NR_a)-$ 、 $-C(=S)-$ 、 $-O-$ 、 $-Si(R_a)_2-$ 、 $-S(=O)_x-$ 、および $-N(R_a)-$;

(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;

それぞれの R_a および R_b は、独立して、H、保護基、ヒドロキシル、 C_1-C_{12} アルキル、置換されている C_1-C_{12} アルキル、 C_2-C_{12} アルケニル、置換されている C_2-C_{12} アルケニル、 C_2-C_{12} アルキニル、置換されている C_2-C_{12} アルキニル、 C_5-C_{20} アリール、置換されている C_5-C_{20} アリール、ヘテロシクリルラジカル、置換されているヘテロシクリルラジカル、ヘテロアリール、置換されているヘテロアリール、 C_5-C_7 脂環式ラジカル、置換されている C_5-C_7 脂環式ラジカル、ハロゲン、 OJ_1 、 NJ_1J_2 、 SJ_1 、 N_3 、 $COOJ_1$ 、アシル($C(=O)-H$)、置換されているアシル、 CN 、スルホニル($S(=O)_2-J_1$)、またはスルホキシル($S(=O)-J_1$)であり;

それぞれの J_1 および J_2 は、独立して、H、 C_1-C_{12} アルキル、置換されている C_1-C_{12} アルキル、 C_2-C_{12} アルケニル、置換されている C_2-C_{12} アルケニル、

C₂-C₁₂アルキニル、置換されているC₂-C₁₂アルキニル、C₅-C₂₀アリール、置換されているC₅-C₂₀アリール、アシル(C(=O)-H)、置換されているアシル、ヘテロシクリルラジカル、置換されているヘテロシクリルラジカル、C₁-C₁₂アミノアルキル、置換されているC₁-C₁₂アミノアルキルまたは保護基である)から独立して選択される1つまたは2~4つの結合した基を独立して含む)が挙げられるが、ただしこれらに限定されない。

【0357】

ある特定の実施形態では、二環式糖部分の架橋は、 $-[C(R_a)(R_b)]_n-$ 、 $-[-[C(R_a)(R_b)]_n-O-$ 、 $-C(R_aR_b)-N(R)-O-$ または $-C(R_aR_b)-O-N(R)-$ である。ある特定の実施形態では、架橋は、4'-CH₂-2', 4'-(CH)₂-2', 4'-(CH)₃-2', 4'-CH-O-2', 4'-(CH₂)₂-O-2', 4'-CH-O-N(R)-2' および 4'-CH-N(R)-O-2' (式中、それぞれのRは、独立して、H、保護基またはC₁-C₁₂アルキルであり、それぞれのR_aおよびR_bは、独立して、H、保護基、ヒドロキシル、C₁-C₁₂アルキル、置換されているC₁-C₁₂アルキル、C₂-C₁₂アルケニル、置換されているC₂-C₁₂アルケニル、C₂-C₁₂アルキニル、置換されているC₂-C₁₂アルキニル、C₅-C₂₀アリール、置換されているC₅-C₂₀アリール、ヘテロシクリルラジカル、置換されているヘテロシクリルラジカル、ヘテロアリール、置換されているヘテロアリール、C₅-C₇脂環式ラジカル、置換されているC₅-C₇脂環式ラジカル、ハロゲン、OJ₁、NJ₁J₂、SJ₁、N₃、COOJ₁、アシル(C(=O)-H)、置換されているアシル、CN、スルホニル(S(=O)₂-J₁)、またはスルホキシル(S(=O)-J₁)であり；それぞれのJ₁およびJ₂は、独立して、H、C₁-C₁₂アルキル、置換されているC₁-C₁₂アルキル、C₂-C₁₂アルケニル、置換されているC₂-C₁₂アルケニル、C₂-C₁₂アルキニル、置換されているC₂-C₁₂アルキニル、C₅-C₂₀アリール、置換されているC₅-C₂₀アリール、アシル(C(=O)-H)、置換されているアシル、ヘテロシクリルラジカル、置換されているヘテロシクリルラジカル、C₁-C₁₂アミノアルキル、置換されているC₁-C₁₂アミノアルキルまたは保護基であり；Rは、H、C₁-C₁₂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)。

【0358】

ある特定の実施形態では、二環式ヌクレオシドは、異性体コンフィギュレーションによってさらに定義される。例えば、4'-2'メチレン-オキシ架橋を含むヌクレオシドは、α-Lコンフィギュレーションまたはβ-Dコンフィギュレーションであってもよい。これまでに、α-L-メチレンオキシ(4'-CH₂-O-2')BNAが、アンチセンス活性を示したアンチセンスオリゴヌクレオチドに組み込まれている(Frieden et al., Nucleic Acids Research, 2003, 21, 6365-6372)。

【0359】

ある特定の実施形態では、二環式ヌクレオシドとして、α-L-メチレンオキシ(4'-CH₂-O-2')BNA、β-D-メチレンオキシ(4'-CH-O-2')BNA、エチレンオキシ(4'-(CH₂)₂-O-2')BNA、アミノオキシ(4'-CH₂-O-N(R)-2')BNA、130イロリド(4'-CH-N(R)-O-2')BNA、メチル(メチレンオキシ)(4'-CH(CH₃)-O-2')BNA、メチレン-チオ(4'-CH₂-S-2')BNA、メチレン-アミノ(4'-CH-N(R)-2')BNA、メチル炭素環式(4'-CH₂-CH(CH₃)-2')BNA、およびプロピレン炭素環式(4'-(CH₂)₃-2')BNA (式中、Rは、H、C₁-C₁₂アルキル、または保護基である) (2008年9月23日発行された、米国特許第7,427,672号を参照)が挙げられるが、ただしこれらに限定されない。

【0360】

本開示は、一部の実施形態では、患者に、薬学的に許容される組成物、例えば、1つまたは複数のSTMN2オリゴヌクレオチドを含む薬学的に許容される製剤を投与する方法

をさらに含む、神経学的疾患および／またはニューロパシーを処置、改善、または予防するための方法を提供する。STMN2オリゴヌクレオチドは、STMN2活性、例えば、STMN2活性、ならびに／またはSTMN2発現、例えば、STMN2 mRNAおよび／もしくはタンパク質発現のレベルを増加させるか、回復させるか、または安定化することができる。

【0361】

本開示はまた、1つまたは複数の薬学的または化粧学的に許容される賦形剤と共に製剤化されたSTMN2オリゴヌクレオチドを含む医薬組成物を提供する。これらの製剤として、経口、舌下、気管内、鼻腔内、経皮、肺内、くも膜下腔内、視床内、大槽内、脳室内、非経口（例えば、皮下、筋肉内、皮内、十二指腸内、もしくは静脈内）投与、経粘膜（例えば、頬側、腔内、および直腸内）投与、または局所使用に適するもの、例えば、皮膚および／または粘膜に対して局所的に適用するのに適する組成物、例えば、ゲル、ペースト、ワックス、クリーム、スプレー、液体、フォーム、ローション、軟膏、局所用溶液、経皮パッチ、粉末、蒸気、またはチンキ剤の形態の組成物の一部としての使用に適するものが挙げられる。所与のケースのいずれかを問わず、投与の最も適する形態は、処置される状態の程度や重症度、および使用される特定のSTMN2オリゴヌクレオチドの性質に依存する。

【0362】

本開示はまた、STMN2オリゴヌクレオチドまたは薬学的に許容されるその塩（例えば、配列番号1～466、配列番号893～1338、配列番号1342～1366、および配列番号1392～1664のいずれかの配列を含むSTMN2 AON）を含む医薬組成物を提供する。

【0363】

本開示はまた、1つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤と共に製剤化されているSTMN2 AONを含む医薬組成物の使用を含む方法を提供する。本明細書において提供される例となる組成物としては、STMN2 AON、および1つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤を含む組成物が挙げられる。製剤としては、経口、舌下、気管内、鼻腔内、経皮、肺内、くも膜下腔内、視床内、大槽内、脳室内、非経口（例えば、皮下、筋肉内、皮内、十二指腸内、もしくは静脈内）投与、経粘膜（例えば、頬側、腔内、および直腸内）投与、または局所使用に適するものが挙げられる。所与のケースのいずれかを問わず、最も適する投与の形態は、臨床症状、合併症、または対象において予防しようと試みられている態状、障害、疾患、もしくは状態の生化学的兆候；ならびに／あるいは使用される具体的な化合物および／または組成物の性質に依存する。

【0364】

さらなる化学的に修飾されているSTMN2オリゴヌクレオチド

本明細書に記載されるSTMN2 AONは、改変型リボヌクレオシドおよび改変型デオキシリボヌクレオシドを含む、化学的に改変されたヌクレオシドを含み得る。化学的に改変されたヌクレオシドとして、ウラシル、ウラシン (uracine)、ウリジン、2'-O-（2-メトキシエチル）改変体、例えば、2'-O-（2-メトキシエチル）グアノシン、2'-O-（2-メトキシエチル）アデノシン、2'-O-（2-メトキシエチル）シトシン、および2'-O-（2-メトキシエチル）チミジンが挙げられるが、ただしこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、混合型モダリティ、例えば、STMN2ペプチド核酸 (PNA) およびSTMN2ロックド核酸 (LNA) の組合せ。化学的に改変されたヌクレオシドには、ロックド核酸 (LNA)、2'-O-メチル、2'-フルオロ、および2'-フルオロ-β-D-アラビノヌクレオチド (FANA)、およびフルオロシクロヘキセニル核酸 (F-CeNA) 改変体も含まれるが、ただしこれらに限定されない。本明細書に記載されるSTMN2 AONに含まれる得る化学的に改変されたヌクレオシドは、JohannesおよびLucchino (2018) の“Current Challenges in Delivery and Cytosolic Translocation of Therapeutic RNAs” Nucleic Acid Ther. 28(3): 178-93; RettigおよびBehlke (2012) の“

Progress toward in vivo use of siRNAs-II” Mol Ther 20:483-512 ; ならびに Khvorova および Watts (2017) の “The chemical evolution of oligonucleotide therapies of clinical utility” Nat Biotechnol., 35(3):238-48 に記載されており、そのそれぞれの内容は本明細書において参考として援用する。

【0365】

本明細書に記載される STMN2 AON は、オリゴヌクレオチド末端部の 5'リン酸、および 5'リン酸のホスファターゼ耐性アナログの安定化を促進する化学的改変を含み得る。オリゴヌクレオチド末端部 5'リン酸の安定化を促進し、または 5'リン酸のホスファターゼ耐性アナログである化学的改変として、5'-メチルホスホネート、5'-メチレンホスホネート、5'-メチレンホスホネートアナログ、5'-E-ビニルホスホネート (10 5'-E-VP)、5'-ホスホロチオエート、および 5'-C-メチルアナログが挙げられるが、ただしこれらに限定されない。AON 末端部 5'リン酸および 5'リン酸のホスファターゼ耐性アナログの安定化を促進する化学的改変は、Khvorova および Watts (2017) の “The chemical evolution of oligonucleotide therapies of clinical utility” Nat Biotechnol., 35(3):238-48 に記載されており、その内容を本明細書において参考として援用する。

【0366】

本明細書に記載される一部の実施形態では、本明細書に記載される STMN2 AON は、化学的に改変されたヌクレオシド、例えば 2'-O-メチルリボヌクレオシド、例えば 2'-O-メチルシチジン、2'-O-メチルグアノシン、2'-O-メチルウリジン、および / 20 または 2'-O-メチルアデノシンを含み得る。本明細書に記載される STMN2 AON は、5'-メチルピリミジン、例えば 5'-メチルシトシン、および / または 5'-メチルプリン、例えば 5'-メチルグアニンを含む、1つまたは複数の化学的に改変された塩基を含み得る。化学的に改変された塩基には、プソイドウリジンまたは 5'-メトキシウリジンがさらに含まれ得る。本明細書に記載される STMN2 AON は、下記の化学的に改変されたヌクレオシド：5'-メチル-2'-O-メチルシチジン、5'-メチル-2'-O-メチルチミジン、5'-メチルシチジン、5'-メチルウリジン、および / または 5'-メチル 2'-デオキシシチジンのいずれかを含み得る。

【0367】

本明細書に記載される STMN2 AON は、オリゴヌクレオチド結合のうちの 1つまたは複数のホスフェート結合であるリン酸骨格を含み得る。本明細書に記載される STMN2 AON は、改変型オリゴヌクレオチド骨格を含み得るが、ただし配列のヌクレオシド結合のうちの 1つまたは複数の、ホスホロチオエート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3'-メトキシプロピルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィナート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホルアミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、ホスホロジアミデート (例えば、ホスホロジアミデートモルホリノ (PMO)、3'アミノリボース、または 5'アミノリボースを含む) 結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合からなる群から選択される。本明細書に記載される STMN2 AON の一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドの少なくとも 1つの (すなわち、1つまたは複数の) ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合である。例えば、本明細書に記載される STMN2 AON の一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドの 1、2、3 個、またはそれを上回る数のヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合である。本明細書に記載される STMN2 AON の好ましい実施形態では、オリゴヌクレオチドのすべてのヌクレオシド間結合はホスホロチオエート結合である。したがって、一部の実施形態では、配列番号 1~466、配列番号 893~1338、配列番号 1342~1366、および配列番号 1392~1664 のいずれかの STMN2 AON において、そのヌクレオチド結合のすべてがホスホロチオエート結合である。一部 50

の実施形態では、配列番号 1～466、配列番号 893～1338、配列番号 1342～1366、および配列番号 1392～1664 のいずれかの STMN2 AON において、そのヌクレオチド結合の 1 つまたは複数は、ホスホロチオエート結合である。

【0368】

様々な実施形態では、配列番号 1～466、配列番号 893～1338、配列番号 1342～1366、および配列番号 1392～1664 のいずれかなどの、本明細書に記載される STMN2 AON のヌクレオチド結合として、ホスホジエステルおよびホスホロチオエート結合の混合物が挙げられる。

【0369】

一部の実施形態では、本明細書に記載される STMN2 AON の位置 3 における塩基を連結しているヌクレオシド結合は、ホスホジエステル結合である。例えば、位置 3 における塩基は、ホスホジエステル結合を介して、それぞれの隣接する塩基（例えば、前に位置する塩基および後に位置する塩基）に連結されてもよい。例となる、位置 3 における塩基を連結しているホスホジエステル結合を有する 25mer の STMN2 AON は、
X X o D o X X X X X X X X X X X X X X X X X X X X X X X

（式中、「o」は、ホスホジエステル結合を表し、「D」は、位置 3 における塩基を表す）として示すことができる。AON における任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0370】

一部の実施形態では、本明細書に記載される STMN2 AON の位置 3 における塩基を連結しているヌクレオシド結合の 1 つは、ホスホジエステル結合である。例えば、位置 3 における塩基は、ホスホジエステル結合を介して、前に位置する塩基または後に位置する塩基のいずれかに連結されていてもよい。例となる、位置 3 における塩基を前に位置する塩基に連結しているホスホジエステル結合を有する 25mer の STMN2 AON は、
X X o D X X X X X X X X X X X X X X X X X X X X X X X

（式中、「o」は、ホスホジエステル結合を表し、「D」は、位置 3 における塩基を表す）として示すことができる。AON における任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0371】

例となる、位置 3 における塩基を後に位置する塩基に連結しているホスホジエステル結合を有する 25mer の STMN2 AON は、

X X D o X X X X X X X X X X X X X X X X X X X X X X X

（式中、「o」は、ホスホジエステル結合を表し、「D」は、位置 3 における塩基を表す）として示すことができる。AON における任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0372】

様々な実施形態では、ホスホジエステル結合である本明細書に記載される STMN2 AON の位置 3 における塩基を連結しているヌクレオシド結合の 1 つに加えて、STMN2 AON は、2 つのスペーサーをさらに含む。2 つのスペーサーは、STMN2 AON が、多くとも 7 個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含むように、STMN2 AON に位置することができる。例となる、2 つのスペーサーおよび位置 3 における塩基を前に位置する塩基に連結しているホスホジエステル結合を有する 25mer の STMN2 AON は、

X x o D S₁ X X X X X X X X X S₂ X X X X X X X X X X X

（式中、「S₁」は、第 1 のスペーサーを表し、「S₂」は、第 2 のスペーサーを表し、「o」は、ホスホジエステル結合を表し、「D」は、位置 3 における塩基を表す）として示すことができる。AON における任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0373】

例となる、2 つのスペーサーおよび位置 3 における塩基を後に位置する塩基に連結して

いるホスホジエステル結合を有する 25mer の STMN2 AON は、
 XXD o XXXXXXXX S₁ XXXXXXXX S₂ XXXX

（式中、「S₁」は、第1のスペーサーを表し、「S₂」は、第2のスペーサーを表し、「o」は、ホスホジエステル結合を表し、「D」は、位置3における塩基を表す）として示すことができる。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0374】

一部の実施形態では、本明細書に記載される STMN2 AON の位置4における塩基を連結しているヌクレオシド結合は、ホスホジエステル結合である。例えば、位置4における塩基は、ホスホジエステル結合を介して、それぞれの隣接する塩基（例えば、前に位置する塩基および後に位置する塩基）に連結されていてもよい。例となる、位置4における塩基を連結しているホスホジエステル結合を有する 25mer の STMN2 AON は、
 XXX o D o XXXXXXXX XXXXXXXX XXXXXXXX

（式中、「o」は、ホスホジエステル結合を表し、「D」は、位置4における塩基を表す）として示すことができる。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0375】

一部の実施形態では、本明細書に記載される STMN2 AON の位置4における塩基を連結しているヌクレオシド結合の1つは、ホスホジエステル結合である。例えば、位置4における塩基は、ホスホジエステル結合を介して、前に位置する塩基または後に位置する塩基のいずれかに連結されていてもよい。例となる、位置4における塩基を前に位置する塩基に連結しているホスホジエステル結合を有する 25mer の STMN2 AON は、
 XXX o D XXXXXXXX XXXXXXXX XXXXXXXX XXXXXXXX

（式中、「o」は、ホスホジエステル結合を表し、「D」は、位置4における塩基を表す）として示すことができる。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0376】

例となる、位置4における塩基を前に位置する塩基に連結しているホスホジエステル結合を有する 25mer の STMN2 AON は、

XXXD o XXXXXXXX XXXXXXXX XXXXXXXX XXXXXXXX

（式中、「o」は、ホスホジエステル結合を表し、「D」は、位置4における塩基を表す）として示すことができる。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0377】

一部の実施形態では、本明細書に記載される STMN2 AON の位置3と位置4における両方の塩基を連結しているヌクレオシド結合は、ホスホジエステル結合である。例えば、位置3における塩基は、ホスホジエステル結合を介して、それぞれの隣接する塩基（例えば、前に位置する塩基および後に位置する塩基）に連結されていてもよく、位置4における塩基は、ホスホジエステル結合を介して、それぞれの隣接する塩基（例えば、前に位置する塩基および後に位置する塩基）に連結されていてもよい。例となる、位置3および4における塩基を連結しているホスホジエステル結合を有する 25mer の STMN2 AON は、

XX o D o E o XXXXXXXX XXXXXXXX XXXXXXXX

（式中、「o」は、ホスホジエステル結合を表し、「D」は、位置3における塩基を表し、「E」は、位置4における塩基を表す）として示すことができる。様々な実施形態では、STMN2 AON のすべての他の塩基は、ホスホロチオエート結合を介して連結されている。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0378】

様々な実施形態では、1つまたは複数のスペーサーおよびホスホジエステル結合を含む、本明細書に記載される STMN2 AON は、1つまたは複数のスペーサーと関連して

位置する。一部の実施形態では、スペーサーの直前の塩基の Y 数は、ホスホジエステル結合を介して連結されている。様々な実施形態では、Y は、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、11 個、または 12 個の塩基である。特定の実施形態では、Y は、2 個の塩基である。例えば、スペーサーが、位置 15 に位置する場合、STMN2 AON の位置 13 および 14 における塩基はそれぞれ、ホスホジエステル結合を介して、それらのそれぞれの隣接する塩基に連結されている。本明細書に記載される場合、スペーサーは、STMN2 AON における様々な位置に位置することができ、それゆえ、スペーサーの直前の 2 個の塩基は、スペーサーが位置している場所に応じて、STMN2 AON 内で変動することができる。

【0379】

10

様々な実施形態では、STMN2 AON は、1 つより多くのスペーサーを含んでもよい。一部の実施形態では、スペーサーのうちの 1 つのみが、ホスホジエステル結合を介して連結されているスペーサーの直前の塩基の Y 数を有する。このような実施形態では、他のスペーサーは、ホスホロチオエート結合を介して、それぞれの前に位置する塩基に連結されている。様々な実施形態では、スペーサーのうちの 2 つは、ホスホジエステル結合を介して連結されているスペーサーの直前の塩基の Y 数を有する。様々な実施形態では、STMN2 AON におけるスペーサーのそれぞれは、ホスホジエステル結合を介して連結されているスペーサーの直前の塩基の Y 数を有する。様々な実施形態では、STMN2 AON のすべての他の塩基は、ホスホロチオエート結合を介して連結されている。

【0380】

20

一部の実施形態では、スペーサーの直前の塩基の Y 数およびスペーサーの直後の塩基の Z 数は、ホスホジエステル結合を介して連結されている。様々な実施形態では、Y は、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、11 個、または 12 個の塩基である。様々な実施形態では、Z は、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、11 個、または 12 個の塩基である。Y および Z は、互いに独立することができる。特定の実施形態では、Y は、1 つの塩基であり、Z は、1 つの塩基である。例えば、スペーサーが、位置 15 に位置する場合、STMN2 AON の位置 14 および 16 における塩基はそれぞれ、ホスホジエステル結合を介して、それらのそれぞれの隣接する塩基に連結されている。例を提供するために、このような STMN2 AON (例えば、25mer) は、

30

XXXXXXXXXXXXXXXXX o D o S o E o XXXXXXXXXXXX

(式中、「S」は、スペーサーを表し、「o」は、ホスホジエステル結合を表し、「D」は、スペーサーの直前の塩基を表し、「E」は、スペーサーの直後の塩基を表す)として示すことができる。AON における任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0381】

本明細書に記載される場合、スペーサーは、STMN2 AON における様々な位置に位置することができ、それゆえ、スペーサーの直前のか、または直後の塩基は、スペーサーが位置する場所に応じて、STMN2 AON 内で変動することができる。

【0382】

40

様々な実施形態では、STMN2 AON は、1 つより多くのスペーサーを含んでもよい。一部の実施形態では、スペーサーのうちの 1 つのみは、スペーサーの直前の塩基の Y 数およびホスホジエステル結合を介して連結されているスペーサーの直後の Z 数を有する。このような実施形態では、STMN2 AON の他のスペーサーは、ホスホロチオエート結合を介して、それぞれの前に位置する塩基および後に位置する塩基に連結されている。例を提供するために、このような STMN2 AON (例えば、25mer) は、

XXXXXXXXX o D o S₁ o E o XXXXXXXXXXXX S₂ XXXXXXXX

(式中、「S₁」は、第 1 のスペーサーを表し、「S₂」は、第 2 のスペーサーを表し、「o」は、ホスホジエステル結合を表し、「D」は、スペーサーの直前の塩基を表し、「E」は、スペーサーの直後の塩基を表す)として示すことができる。AON における任

50

意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0383】

別の例として、このようなSTMN2 AON（例えば、25mer）は、
X X X X X S₁ X X X X X X X X X X o D o S₂ o D o X X X X X

（式中、「S₁」は、第1のスペーサーを表し、「S₂」は、第2のスペーサーを表し、「o」は、ホスホジエステル結合を表し、「D」は、スペーサーの直前の塩基を表し、「E」は、スペーサーの直後の塩基を表す）として示すことができる。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0384】

一部の実施形態では、スペーサーの1つは、ホスホジエステル結合を介して直前の塩基に連結されている。例えば、STMN2 AONは、ホスホジエステル結合を介して直前の塩基に連結されている第1のスペーサーを含み、それは、

X X X X X X o S₁ X X X X X X X X X X S₂ X X X X X X

（式中、「S₁」は、第1のスペーサーを表し、「S₂」は、第2のスペーサーを表し、「o」は、ホスホジエステル結合を表す）として示すことができる。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0385】

別の例として、STMN2 AONは、ホスホジエステル結合を介して直前の塩基に連結されている第2のスペーサーを含み、それは、

X X X X X X S₁ X X X X X X X X X X X o S₂ X X X X X X

（式中、「S₁」は、第1のスペーサーを表し、「S₂」は、第2のスペーサーを表し、「o」は、ホスホジエステル結合を表す）として示すことができる。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0386】

様々な実施形態では、STMN2 AONは、スペーサーの1つが、ホスホジエステル結合を介して直前の塩基に連結されている、AONバリエーション（例えば、23mer、21mer、または19mer）であってもよい。例えば、STMN2 AONは、ホスホジエステル結合を介して直前の塩基に連結されている第1のスペーサーを有する21merであってもよく、それは、

X X X X X X X o S₁ X X X X X S₂ X X X X X X X

（式中、「S₁」は、第1のスペーサーを表し、「S₂」は、第2のスペーサーを表し、「o」は、ホスホジエステル結合を表す）として示すことができる。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0387】

別の例として、STMN2 AONは、ホスホジエステル結合を介して直前の塩基に連結されている第2のスペーサーを有する21merであってもよく、それは、

X X X X X X X S₁ X X X X X o S₂ X X X X X X X

（式中、「S₁」は、第1のスペーサーを表し、「S₂」は、第2のスペーサーを表し、「o」は、ホスホジエステル結合を表す）として示すことができる。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0388】

一部の実施形態では、STMN2 AONは、スペーサーの1つが、ホスホジエステル結合を介して直前の塩基に連結されており、直前の塩基が、ホスホジエステル結合を介して前に位置する塩基にさらに連結されている、AONバリエーション（例えば、23mer、21mer、または19mer）であってもよい。例となる21merのSTMN2 AONは、

X X X E o D o S₁ X X X X X X S₂ X X X X X X X

（式中、「S₁」は、第1のスペーサーを表し、「S₂」は、第2のスペーサーを表し、「o」は、ホスホジエステル結合を表し、「D」は、S₁の直前の塩基を表し、「E」は、「D」の直前の塩基を表す）として示すことができる。AONにおける任意の核酸塩

10

20

30

40

50

基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0389】

別の例として、21merのSTMN2 AONは、
 XXXXXS₁XXXXEoDoS₂XXXXXXXX

(式中、「S₁」は、第1のスペーサーを表し、「S₂」は、第2のスペーサーを表し、「o」は、ホスホジエステル結合を表し、「D」は、S₂の直前の塩基を表し、「E」は、「D」の直前の塩基を表す)として示すことができる。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0390】

一部の実施形態では、STMN2 AONは、第1のスペーサーの直前の塩基が、ホスホジエステル結合を介して別の塩基に連結されている、AONバリエーション(例えば、23mer、21mer、または19mer)であってもよい。第1のスペーサーの直前の塩基は、ホスホロチオエート結合などの、非ホスホジエステル結合を介して第1のスペーサーに連結されていてもよい。加えて、第2のスペーサーは、ホスホジエステル結合を介して直前の塩基に連結されている。21merのSTMN2 AONの例は、
 XXXEoDS₁XXXXXXXXoS₂XXXXXXXX

(式中、「S₁」は、第1のスペーサーを表し、「S₂」は、第2のスペーサーを表し、「o」は、ホスホジエステル結合を表し、「D」は、S₁の直前の塩基を表し、「E」は、「D」の直前の塩基を表す)として示すことができる。ここで、塩基「D」は、非ホスホジエステル結合(例えば、ホスホロチオエート結合)を介して第1のスペーサーS₁に連結されている。加えて、塩基「D」は、ホスホジエステル結合を介して塩基「E」に連結されている。第2のスペーサーS₂は、ホスホジエステル結合を介して直前の塩基に連結されている。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0391】

このような21merのSTMN2 AONの別の例は、
 XXXXXoS₁XXXXEoDS₂XXXXXXXX

(式中、「S₁」は、第1のスペーサーを表し、「S₂」は、第2のスペーサーを表し、「o」は、ホスホジエステル結合を表し、「D」は、S₂の直前の塩基を表し、「E」は、「D」の直前の塩基を表す)として示すことができる。ここで、塩基「D」は、非ホスホジエステル結合(例えば、ホスホロチオエート結合)を介して第2のスペーサーS₂に連結されている。加えて、塩基「D」は、ホスホジエステル結合を介して塩基「E」に連結されている。第1のスペーサーS₁は、ホスホジエステル結合を介して直前の塩基に連結されている。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0392】

一部の実施形態では、スペーサーの1つは、ホスホジエステル結合を介して直後の塩基に連結されている。例えば、STMN2 AONは、ホスホジエステル結合を介して直後の塩基に連結されている第1のスペーサーを含み、それは、
 XXXXXXS₁oXXXXXXXXXXXXX₂XXXXXXXX

(式中、「S₁」は、第1のスペーサーを表し、「S₂」は、第2のスペーサーを表し、「o」は、ホスホジエステル結合を表す)として示すことができる。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0393】

別の例として、STMN2 AONは、ホスホジエステル結合を介して直後の塩基に連結されている第2のスペーサーを含み、それは、
 XXXXXXS₁XXXXXXXXXXXXX₂oXXXXXXXX

(式中、「S₁」は、第1のスペーサーを表し、「S₂」は、第2のスペーサーを表し、「o」は、ホスホジエステル結合を表す)として示すことができる。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0394】

様々な実施形態では、STMN2 AONは、スペーサーの1つが、ホスホジエステル結合を介して直後の塩基に連結されている、AONバリエーション（例えば、23mer、21mer、または19mer）であってもよい。例えば、STMN2 AONは、ホスホジエステル結合を介して直後の塩基に連結されている第1のスペーサーを有する21merであってもよく、それは、

XXXXXXXXS₁oXXXXXXXXS₂XXXXXXXX

（式中、「S₁」は、第1のスペーサーを表し、「S₂」は、第2のスペーサーを表し、「o」は、ホスホジエステル結合を表す）として示すことができる。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

10

【0395】

別の例として、STMN2 AONは、ホスホジエステル結合を介して直後の塩基に連結されている第2のスペーサーを有する21merであってもよく、それは、

XXXXXXXXS₁XXXXXXXXS₂oXXXXXXXX

（式中、「S₁」は、第1のスペーサーを表し、「S₂」は、第2のスペーサーを表し、「o」は、ホスホジエステル結合を表す）として示すことができる。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0396】

様々な実施形態では、スペーサーのうちの2つは、スペーサーの直前の塩基のY数およびホスホジエステル結合を介して連結されているスペーサーの直後の塩基のZ数を有する。様々な実施形態では、STMN2 AONにおけるスペーサーのそれぞれは、スペーサーの直前の塩基のY数およびホスホジエステル結合を介して連結されているスペーサーの直後の塩基のZ数を有する。このようなSTMN2 AON（例えば、25mer）の例は、

XXXXXXXXDoS₁oEoXXXXXXXXXXXXXoFoS₂oHoXXXXXXXX

（式中、「S₁」は、第1のスペーサーを表し、「S₂」は、第2のスペーサーを表し、「o」は、ホスホジエステル結合を表し、「D」は、第1のスペーサーの直前の塩基を表し、「E」は、第1のスペーサーの直後の塩基を表し、「F」は、第2のスペーサーの直前の塩基を表し、「H」は、第2のスペーサーの直後の塩基を表す）として示すことができる。様々な実施形態では、STMN2 AONのすべての他の塩基は、ホスホロチオエート結合を介して連結されている。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

20

30

【0397】

2つ以上のスペーサーを含む様々なSTMN2 AONにおいて、2つのスペーサーの間に位置する広範な塩基が、ホスホジエステル結合を介して連結されている。様々な実施形態では、塩基の範囲は、ホスホジエステル結合を介して連結されている2個、3個、4個、5個、6個、または7個の塩基を含む。特定の実施形態では、塩基の範囲は、ホスホジエステル結合を介して連結されている2個の塩基を含む。特定の実施形態では、塩基の範囲は、ホスホジエステル結合を介して連結されている4個の塩基を含む。様々な実施形態では、STMN2 AONのすべての他の塩基は、ホスホロチオエート結合を介して連結されている。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

40

【0398】

様々な実施形態では、ホスホジエステル結合を介して連結されている塩基の範囲は、第1のスペーサーの後に位置する塩基のY数および第2のスペーサーの前に位置する塩基のZ数に位置する。様々な実施形態では、Yは、1個、2個、3個、4個、5個、6個、または7個の塩基である。様々な実施形態では、Zは、1個、2個、3個、4個、5個、6個、または7個の塩基である。YおよびZは、互いに独立することができる。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0399】

50

特定の実施形態では、Yは、5個の塩基であり、Zは、4個の塩基である。例を提供するために、このようなSTMN2 AON（例えば、25mer）は、
 XXXXXXS₁XXXXoDoEoFoHoXXXS₂XXXX

（式中、「S₁」は、第1のスペーサーを表し、「S₂」は、第2のスペーサーを表し、「o」は、ホスホジエステル結合を表す）として示することができる。塩基「D」、「E」、「F」、および「H」は、ホスホジエステル結合を介して連結されている塩基の範囲を表す。この例では、塩基の範囲は、第1のスペーサーの後の5塩基に位置し（例えば、Dは、第1のスペーサーの後の5塩基に位置し）、塩基の範囲は、第2のスペーサーの前に位置する4塩基に位置する（例えば、Hは、第2のスペーサーの前の4塩基に位置する）。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

10

【0400】

特定の実施形態では、Yは、4個の塩基であり、Zは、3個の塩基である。例を提供するために、このようなSTMN2 AON（例えば、23mer）は、
 XXXXXXS₁XXXoDoEoXXXS₂XXXXXXXX

（式中、「S₁」は、第1のスペーサーを表し、「S₂」は、第2のスペーサーを表し、「o」は、ホスホジエステル結合を表す）として示することができる。塩基「D」および「E」は、ホスホジエステル結合を介して連結されている塩基の範囲を表す。この例では、塩基の範囲は、第1のスペーサーの後の4塩基に位置し（例えば、Dは、第1のスペーサーの後の4塩基に位置し）、塩基の範囲は、第2のスペーサーの前に位置する3塩基に位置する（例えば、Eは、第2のスペーサーの前の3塩基に位置する）。様々な実施形態では、2つのスペーサーの位置は、上で示したものと異なり、それゆえ、ホスホジエステル結合を介して連結されている塩基の範囲は、異なって位置する。様々な実施形態では、STMN2 AONのすべての他の塩基は、ホスホロチオエート結合を介して連結されている。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

20

【0401】

以下の表10は、ホスホジエステルおよびホスホロチオエート結合の混合を有するSTMN2 AONの例をさらに示す。特に、表10は、スペーサーならびにホスホジエステルおよびホスホロチオエート結合の混合を含むSTMN2 AONの例を示す。AONにおける任意の核酸塩基は、核酸塩基アナログであることができる。

【0402】

30

40

50

【表 1 2 - 1】

表 10:例となる、ホスホジエステルおよびホスホロチオエート結合の混合物を有する STMN2 AON

配列番号	AON配列 [*] (5'→3')(式中、「o」は、ホスホジエステル結合を表し、「S」は、スパーサーを示す)。全ての他の結合は、ホスホロチオエート結合である。	ホスホジエステル結合で連結されている塩基
173	GAGTCCTGCAATATGAATATAATTT	N/A
1451	GAoGo <u>So</u> CCTGCAATAT <u>S</u> AATATAATTT	位置3および4における塩基
1452	GAoGoToCCTGCA <u>S</u> TATGAATAT <u>S</u> ATTT	位置3および4における塩基
1453	GAoGoToCC <u>S</u> GCAATATGAAT <u>S</u> TAATTT	位置3および4における塩基
1454	GAoGoToCC <u>S</u> GCAATATGAAS <u>S</u> ATAATTT	位置3および4における塩基
1455	GToCoCoTG <u>C</u> SATATGAAS <u>S</u> ATAAT	位置3および4における塩基
1456	GToCoCoT <u>S</u> CAATATGSATATAAT	位置3および4における塩基
1457	GToCoCoTG <u>C</u> SATATGSATATAAT	位置3および4における塩基
1458	GAG <u>S</u> CCTGCAAToAoTo <u>S</u> AATATAATTT	スパーサーの前に位置する2個の塩基
1459	GAGTCCTGCA <u>S</u> TATGAAToAoTo <u>S</u> ATTT	スパーサーの前に位置する2個の塩基
1460	GAGTCC <u>S</u> GCAATATGAoAoTo <u>S</u> TAATTT	スパーサーの前に位置する2個の塩基
1461	GAGTCC <u>S</u> GCAATATGoAoAo <u>S</u> ATAATTT	スパーサーの前に位置する2個の塩基
1462	GTCCTG <u>C</u> SATATGoAoAo <u>S</u> ATAAT	スパーサーの前に位置する2個の塩基
1463	GTCCT <u>S</u> CAATAoToGo <u>S</u> ATATAAT	スパーサーの前に位置する2個の塩基
1464	GTCCTG <u>C</u> SATAoToGo <u>S</u> ATATAAT	スパーサーの前に位置する2個の塩基
1465	GAoGo <u>So</u> CoCTGCAATAT <u>S</u> AATATAATTT	スパーサーの前に位置する1個の塩基およびスパーサーの後に位置する1個の塩基
1466	GAGTCCTGCoAo <u>So</u> ToATGAATAT <u>S</u> ATTT	スパーサーの前に位置する1個の塩基およびスパーサーの後に位置する1個の塩基
1467	GAGTCoCo <u>So</u> GoCAATATGAAT <u>S</u> TAATTT	スパーサーの前に位置する1個の塩基およびスパーサーの後に位置する1個の塩基

【 0 4 0 3】

10

20

30

40

【表 1 2 - 2】

1468	GAGTC <u>CoCo</u> <u>So</u> GoCAATATGAAS <u>A</u> TAAATTT	スぺーサーの前に位置する1個の塩基およびスぺーサーの後に位置する1個の塩基
1469	GTCCTGoCo <u>So</u> AoTATGAAS <u>A</u> TAAAT	スぺーサーの前に位置する1個の塩基およびスぺーサーの後に位置する1個の塩基
1470	GTCCoTo <u>So</u> CoAATATGS <u>A</u> TATAAT	スぺーサーの前に位置する1個の塩基およびスぺーサーの後に位置する1個の塩基
1471	GTCCTGoCo <u>So</u> AoTATGS <u>A</u> TATAAT	スぺーサーの前に位置する1個の塩基およびスぺーサーの後に位置する1個の塩基
1472	GAG <u>S</u> CCTGCAATAoTo <u>So</u> AoATATAATTT	スぺーサーの前に位置する1個の塩基およびスぺーサーの後に位置する1個の塩基
1473	GAGTCCTGCA <u>S</u> TATGAATAoTo <u>So</u> AoTTT	スぺーサーの前に位置する1個の塩基およびスぺーサーの後に位置する1個の塩基
1474	GAGTCC <u>S</u> GCAATATGAAoTo <u>So</u> ToAATTT	スぺーサーの前に位置する1個の塩基およびスぺーサーの後に位置する1個の塩基
1475	GAGTCC <u>S</u> GCAATATGAoAo <u>So</u> AoTAATTT	スぺーサーの前に位置する1個の塩基およびスぺーサーの後に位置する1個の塩基
1476	GTCCTGC <u>S</u> ATATGAoAo <u>So</u> AoTAAT	スぺーサーの前に位置する1個の塩基およびスぺーサーの後に位置する1個の塩基
1477	GTCCT <u>S</u> CAATAToGo <u>So</u> AoTATAAT	スぺーサーの前に位置する1個の塩基およびスぺーサーの後に位置する1個の塩基

10

20

30

40

【0 4 0 4】

【表 1 2 - 3】

1478	GTCCTGCS <u>AT</u> AToGo <u>So</u> AoTATAAT	スパーサーの前に位置する1個の塩基およびスパーサーの後に位置する1個の塩基
1479	GAoGo <u>So</u> CoCTGCAATAoTo <u>So</u> AoATATAATTT	それぞれのスパーサーの前に位置する1個の塩基およびそれぞれのスパーサーの後に位置する1個の塩基
1480	GAGTCCTGCoAo <u>So</u> ToATGAATAoTo <u>So</u> AoTTT	それぞれのスパーサーの前に位置する1個の塩基およびそれぞれのスパーサーの後に位置する1個の塩基
1481	GAGTCCoCo <u>So</u> GoCAATATGAAoTo <u>So</u> ToAATTT	それぞれのスパーサーの前に位置する1個の塩基およびそれぞれのスパーサーの後に位置する1個の塩基
1482	GAGTCCoCo <u>So</u> GoCAATATGAoAo <u>So</u> AoTAATTT	それぞれのスパーサーの前に位置する1個の塩基およびそれぞれのスパーサーの後に位置する1個の塩基
1483	GTCCTGoCo <u>So</u> AoTATGAoAo <u>So</u> AoTAAT	それぞれのスパーサーの前に位置する1個の塩基およびそれぞれのスパーサーの後に位置する1個の塩基
1484	GTCCoTo <u>So</u> CoAATAToGo <u>So</u> AoTATAAT	それぞれのスパーサーの前に位置する1個の塩基およびそれぞれのスパーサーの後に位置する1個の塩基
1485	GTCCTGoCo <u>So</u> AoTAToGo <u>So</u> AoTATAAT	それぞれのスパーサーの前に位置する1個の塩基およびそれぞれのスパーサーの後に位置する1個の塩基
197	CCTTTCTCTCGAAGGTCTTCTGCCG	N/A
1430	CCTTTCTCTCGAAGGTCTTCTGC	N/A

10

20

30

40

【 0 4 0 5 】

【表 1 2 - 4】

1431	CTTTCTCTCGAAGGTCTTCTGCC	N/A
1486	CCoToToTCTCTCGAAGGTCTTCTGCCG	位置3および4における塩基
1487	CCoToToTCTC <u>SC</u> GAAGGTCTTC <u>SG</u> CCG	位置3および4における塩基
1488	CToToToCTC <u>SC</u> GAAGGT <u>ST</u> TCTGCC	位置3および4における塩基
1489	TToToCoTCT <u>SG</u> AAGGTCTCTGCCG	位置3および4における塩基
1490	TToToCoTCTCGAAGGTCTTCTGCCG	位置3および4における塩基
1491	CCoToToTCTCTCGAAGGTCTTCTGC	位置3および4における塩基
1492	CCTTTCoToCo <u>SC</u> GAAGGTCTTC <u>SG</u> CCG	スペーサーの前に位置する2個の塩基
1493	CTTTCoToCo <u>SC</u> GAAGGT <u>ST</u> TCTGCC	スペーサーの前に位置する2個の塩基
1494	TTTCToCoTo <u>SG</u> AAGGTCTCTGCCG	スペーサーの前に位置する2個の塩基
1495	CCTTTCTC <u>SC</u> GAAGGTCToToCo <u>SG</u> CCG	スペーサーの前に位置する2個の塩基
1496	CTTTCTC <u>SC</u> GAAGoGoTo <u>ST</u> TCTGCC	スペーサーの前に位置する2個の塩基
1497	TTTCTCT <u>SG</u> AAGGoToCo <u>ST</u> CTGCCG	スペーサーの前に位置する2個の塩基
1498	CCTTTCToCo <u>So</u> CoGAAGGTCTTC <u>SG</u> CCG	スペーサーの前に位置する1個の塩基およびスペーサーの後に位置する1個の塩基
1499	CTTTCToCo <u>So</u> CoGAAGGT <u>ST</u> TCTGCC	スペーサーの前に位置する1個の塩基およびスペーサーの後に位置する1個の塩基
1500	TTTCTCoTo <u>So</u> GoAAGGTCTCTGCCG	スペーサーの前に位置する1個の塩基およびスペーサーの後に位置する1個の塩基
1501	CCTTTCTC <u>SC</u> GAAGGTCTToCo <u>So</u> GoCCG	スペーサーの前に位置する1個の塩基およびスペーサーの後に位置する1個の塩基

10

20

30

40

【 0 4 0 6 】

【表 1 2 - 5】

1502	CTTTCTC <u>S</u> CGAAGGoTo <u>S</u> ToTCTGCC	スペーサーの前に位置する1個の塩基およびスペーサーの後に位置する1個の塩基
1503	TTTCTCT <u>S</u> GAAGGTCo <u>S</u> ToCTGCCG	スペーサーの前に位置する1個の塩基およびスペーサーの後に位置する1個の塩基
1504	CCTTTCTCoCo <u>S</u> CoGAAGGTCTToCo <u>S</u> GoCCG	それぞれのスペーサーの前に位置する1個の塩基およびそれぞれのスペーサーの後に位置する1個の塩基
1505	CTTTCTCoCo <u>S</u> CoGAAGGoTo <u>S</u> ToTCTGCC	それぞれのスペーサーの前に位置する1個の塩基およびそれぞれのスペーサーの後に位置する1個の塩基
1506	TTTCTCoTo <u>S</u> GoAAGGTCo <u>S</u> ToCTGCCG	それぞれのスペーサーの前に位置する1個の塩基およびそれぞれのスペーサーの後に位置する1個の塩基
1507	CCTTTCTC <u>S</u> CGAAoGoGoToCoTTC <u>S</u> GCCG	2つのスペーサーの間の4個の塩基の範囲
1508	CTTTCTC <u>S</u> CGAoAoGoGT <u>S</u> TTCTGCC	2つのスペーサーの間の2個の塩基の範囲
1509	TTTCTCT <u>S</u> GAAoGoGoTC <u>S</u> TCTGCCG	2つのスペーサーの間の2個の塩基の範囲
1510	GAoG <u>S</u> CCTGCAATAT <u>S</u> AATATAATTT	ホスホジエステル結合を介して前に位置する塩基に連結されている塩基3
1511	GAGoTCCTGCA <u>S</u> TATGAATAT <u>S</u> ATTT	ホスホジエステル結合を介して前に位置する塩基に連結されている塩基3
1512	GAGTCCo <u>S</u> GCAATATGAAT <u>S</u> TAATTT	ホスホジエステル結合を介して前に位置する塩基に連結されている第1のスペーサー

10

20

30

40

【0 4 0 7】

【表 1 2 - 6】

1513	GAGTCC <u>S</u> oGCAATATGAASATAATTT	ホスホジエステル結合を介して後に位置する塩基に連結されている第1のスペーサー
1514	GTCCTGC <u>S</u> oATATGAASATAAT	ホスホジエステル結合を介して後に位置する塩基に連結されている第1のスペーサー
1515	GTCCTGC <u>S</u> oSATATGSATATAAT	ホスホジエステル結合を介して前に位置する塩基に連結されている第1のスペーサー
1516	GTCCoTo <u>S</u> CAATATGSATATAAT	ホスホジエステル結合を介して連結されている第1のスペーサーの前に位置する1個の塩基
1517	GAGTCC <u>S</u> GCAATATGAAToSTAATTT	ホスホジエステル結合を介して前に位置する塩基に連結されている第2のスペーサー
1518	GAGTCC <u>S</u> GCAATATGAASoATAATTT	ホスホジエステル結合を介して後に位置する塩基に連結されている第2のスペーサー
1519	GTCCTGC <u>S</u> oATATGAAoATAAT	ホスホジエステル結合を介して前に位置する塩基に連結されている第2のスペーサー
1520	GTCCTGC <u>S</u> oATATGSATATAAT	ホスホジエステル結合を介して後に位置する塩基に連結されている第1のスペーサー
1521	GTCCoT <u>S</u> CAATATGoSATATAAT	ホスホジエステル結合を介して連結されている第1のスペーサーおよびホスホジエステル結合を介して前に位置する塩基に連結されている第2のスペーサーの前に位置する1個の塩基

10

20

30

40

【0408】

一部の実施形態では、開示されるSTMN2 AONは、例えば5'末端または3'末端の一方のみ、もしくは5'末端および3'末端の両方において、またはオリゴヌクレオチド配列に沿って配置される、少なくとも1つの改変型核酸塩基、例えば、5-メチルシトシン、および／または少なくとも1つのメチルホスホネートヌクレオチドを有し得るものと考えられる。

【0409】

STMN2 AONは、少なくとも1つの改変型糖を含み得る。例えば、オリゴヌクレオチドを構成する少なくとも1つのヌクレオチドの糖部分は、2'-OH基が、OR、R

50

、 $R'OR$ 、 SH 、 SR 、 NH_2 、 NR_2 、 N_3 、 CN 、 F 、 Cl 、 Br 、および I （ただし、 R はアルキルまたはアリールであり、また R' はアルキレンである）からなる群から選択される任意の1つと置換し得るリボースである。改変型糖部分の例として、2'-Ome改変型糖部分、二環式糖部分、2'-O-（2-メトキシエチル）（2'MOEまたはMOE）、2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオシド、2'-フルオロ- β -D-アラビノヌクレオシド、ロックド核酸（LNA）、拘束エチル2'-4'架橋型核酸（cEt）、 $S-cEt$ 、tcDNA、ヘキシトール核酸（HNA）、および三環系アナログ（例えば、tcDNA）が挙げられる。

【0410】

一部の実施形態では、STMN2 AONは、2'Ome（例えば、1つまたは複数の2'Ome改変型糖を含むSTMN2 AON）、2'MOEまたはMOE（例えば、1つまたは複数の2'MOE改変型糖を含むSTMN2 AON）、PNA（例えば、アミド結合または糖-リン酸塩骨格に代わる反復単位としてカルボニルメチレン結合によって連結された1つまたは複数のN-（2-アミノエチル）-グリシン単位を含むSTMN2 AON）、LNA（例えば、1つまたは複数のロックドリボースを含み、2'-デオキシヌクレオチドまたは2'Omeヌクレオチドの混合物であり得るSTMN2 AON）、c-ET（例えば、1つまたは複数のcET糖を含むSTMN2 AON）、cMOE（例えば、1つまたは複数のcMOE糖を含むSTMN2 AON）、モルホリノオリゴマー（例えば、1つまたは複数のPMOを含む骨格を含むSTMN2 AON）、デオキシ-2'-フルオロヌクレオチド（例えば、1つまたは複数の2'-フルオロ- β -D-アラビノヌクレオチドを含むSTMN2 AON）、tcDNA（例えば、1つまたは複数のtcDNA改変型糖を含むSTMN2 AON）、ENA（例えば、1つまたは複数のENA改変型糖を含むSTMN2 AON）、またはHNA（例えば、1つまたは複数のHNA改変型糖を含むSTMN2 AON）を含む。一部の実施形態では、STMN2 AONは、1つもしくは複数のホスホロチオエート結合、ホスホジエステル結合、ホスホトリエステル結合、メチルホスホネート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホルアミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、モルホリノ結合、PNA結合、またはホスホロチオエート結合、ホスホジエステル結合、ホスホトリエステル結合、メチルホスホネート結合、ホスホルアミデート結合、モルホリノ結合、およびPNA結合の任意の組合せを含む。一部の実施形態では、STMN2 AONは、1つもしくは複数のホスホロチオエート結合、ホスホジエステル結合、またはホスホロチオエート結合およびホスホジエステル結合の組合せを含む。

【0411】

一部の実施形態では、配列番号1~466、配列番号893~1338、配列番号1342~1366、および配列番号1392~1664のいずれか1つの配列を有するSTMN2 AONは、参照により全体が本明細書に組み込まれる米国特許第9,982,257号、米国特許第10,590,413号、米国特許第10,724,035号、米国特許第10,450,568号、および国際特許出願公開第2019200185号のいずれかに記載される化学的に調節されたオリゴヌクレオチドなどの、化学的に調節されたオリゴヌクレオチドである。

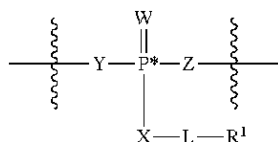
【0412】

例えば、配列番号1~466、配列番号893~1338、配列番号1342~1366、および配列番号1392~1664のいずれか1つの配列を有するSTMN2 AONは、少なくとも1つのタイプの複数のオリゴヌクレオチドを含む化学的に調節されたオリゴヌクレオチドであり、それぞれのタイプは、1)塩基配列；2)骨格結合のパターン；3)骨格不斉中心のパターン；および4)骨格X部分（ $-X-L-R^1$ ）のパターンによって定義され；少なくとも1つのタイプのオリゴヌクレオチドは、1つまたは複数のホスホロチオエートトリエステルヌクレオチド間結合および1つまたは複数のホスフェートジエステル結合を含み；少なくとも1つのタイプのオリゴヌクレオチドは、少なくとも2つの連続する改変型ヌクレオチド間結合を含み；少なくとも1つのオリゴヌクレオチドタ

イブのオリゴヌクレオチドは、

【 0 4 1 3 】

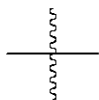
【 化 4 8 】



(式中、 P^* は、非対称のリン原子であり、 R_p または S_p のいずれかであり；
 W は、 O 、 S または Se であり； X 、 Y および Z のそれぞれは、独立して、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-N(-L-R^1)-$ 、または L であり； L は、共有結合または任意選択で置換されている、直鎖もしくは分岐の C_1-C_{50} アルキレンであり、 L の1つまたは複数のメチレン単位は、任意選択で置換されている C_1-C_6 アルキレン、 C_1-C_6 アルケニレン、 $-C\equiv C-$ 、 $-C(R')_2-$ 、 $-Cy-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S-S-$ 、 $-N(R')$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(NR')$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)-$ 、 $-N(R')C(O)O-$ 、 $-OC(O)N(R')$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R')$ 、 $-N(R')S(O)_2-$ 、 $-SC(O)-$ 、 $-C(O)S-$ 、 $-OC(O)-$ 、または $-C(O)O-$ によって任意選択かつ独立して置換されており； R^1 は、ハロゲン、 R 、または任意選択で置換されている C_1-C_{10} 脂肪族であり、1つまたは複数のメチレン単位は、任意選択で置換されている C_1-C_6 アルキレン、 C_1-C_6 アルケニレン、 $-C\equiv C-$ 、 $-C(R')_2-$ 、 $-Cy-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S-S-$ 、 $-N(R')$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(NR')$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)-$ 、 $-N(R')C(O)O-$ 、 $-OC(O)N(R')$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R')$ 、 $-N(R')S(O)_2-$ 、 $-SC(O)-$ 、 $-C(O)S-$ 、 $-OC(O)-$ 、または $-C(O)O-$ によって任意選択かつ独立して置換されており；それぞれの R' は、独立して $-R$ 、 $-C(O)R$ 、 $-CO_2R$ 、または $-SO_2R$ であるか、あるいは同じ窒素上の2つの R' は、それらの介在原子と一緒に、任意選択で置換されているヘテロ環状またはヘテロアリール環を形成するか、あるいは同じ炭素上の2つの R' は、それらの介在原子と一緒に、任意選択で置換されているアリール、炭素環式、ヘテロ環式、またはヘテロアリール環を形成し； $-Cy-$ は、フェニレン、カルボシクリレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、またはヘテロシクリレンから選択される任意選択で置換されている二価の環であり；それぞれの R は、独立して、水素、または C_1-C_6 脂肪族、フェニル、カルボシクリル、アリール、ヘテロアリール、もしくはヘテロシクリルから選択される任意選択で置換されている基であり；それぞれの

【 0 4 1 4 】

【 化 4 9 】



は、ヌクレオシドへの結合を独立して表す)の構造を独立して有する1つまたは複数の改変型ヌクレオチド間結合を含む。一部の実施形態では、配列番号1~466、配列番号893~1338、配列番号1342~1366、および配列番号1392~1664のいずれか1つの配列を有するSTMN2 AONは、米国特許第10,450,568号に記載される、ある特定の化学修飾(例えば、2'F(2'リボース位置にフッ素分子(RN 50

Aモノマーにおける2'-ヒドロキシル基の代わりに)を含有する、2'-フルオロ、)、2'-Ome、ホスホロチオエート結合、脂質コンジュゲーションなど)を含む化学的に調節されたオリゴヌクレオチドである。

【0415】

運動ニューロン疾患

運動ニューロン疾患は、脳による筋肉の随意運動を同調させる運動ニューロンの機能の喪失により特徴づけられる疾患の群である。運動ニューロン疾患は、上位および／または下位運動ニューロンに影響することがあり、孤発性または家族性の起源を有し得る。運動ニューロン疾患は、筋萎縮性側索硬化症（ALSまたはルーゲーリッグ病）、進行性球麻痺、仮性球麻痺、進行性筋萎縮症、原発性側索硬化症、脊髄性筋萎縮症、ポストポリオ症候群、および前頭側頭型認知症を伴うALSを含む。

10

【0416】

運動ニューロン疾患の症状は、筋肉の崩壊または衰弱、筋肉疼痛、攣縮、不明瞭な発話、嚥下困難、筋肉制御の喪失、関節痛、四肢の硬直、呼吸困難、流涎、および筋肉制御の完全な喪失を含み、筋肉制御の完全な喪失は呼吸、嚥下、摂食、発話、および四肢運動などの基本機能にかけてのものを含む。これらの症状にはまた、鬱病、記憶の喪失、計画の困難、言語欠損、行動変化、ならびに空間的關係性の評価の困難および／または人格の変化が付随することがある。

【0417】

運動ニューロン疾患は、様々なツールおよび試験を使用して、技術を有する臨床医、例えば、神経科医により評価および診断され得る。例えば、運動ニューロン疾患の存在またはそれを発症するリスクは、血液および尿試験（例えば、クレアチニンキナーゼの存在をアッセイする試験）、磁気共鳴イメージング（MRI）、筋電図検査（EMG）、神経伝導研究（NCs）、脊椎穿刺、腰椎穿刺、ならびに／または筋肉生検を使用して評価または診断され得る。運動ニューロン疾患は、運動および知覚能力、神経機能、聴覚および発話、視覚、協調および平衡、精神状態、ならびに気分または行動の変化を評価するための身体検査および／または神経学的検査の補助により診断され得る。

20

【0418】

筋萎縮性側索硬化症

ALSは、すべての随意筋肉に対するシグナルを妨害する進行性の運動ニューロン疾患である。ALSは、上位および下位の両方の運動ニューロンの萎縮を結果としてもたらす。ALSの症状は、延髄筋の衰弱および消耗、強度の全般性および両側性の喪失、痙縮、筋攣縮、筋痙攣、線維束性攣縮、不明瞭な発話、ならびに呼吸困難または呼吸能力の喪失を含む。ALSを有する一部の個体はまた認知低下を患う。分子レベルにおいて、ALSは、RNA結合性タンパク質TDP43の凝集物を含む、運動ニューロンの細胞質中のタンパク質およびRNA凝集物により特徴づけられる。

30

【0419】

ALSは、40歳より上の男性において最も一般的であるが、女性および子供においても起こり得る。ALSのリスクはまた、喫煙する、鉛などの化学物質に曝露される、または従軍していた個体において高くなる。ALSのほとんどの事例は孤発性であり、症例の約10%のみが家族性である。ALSの原因は、孤発性または遺伝性の遺伝子突然変異、高レベルのグルタメート（glutamate）、タンパク質のミスハンドリングを含む。ALSと関連付けられる遺伝子突然変異は、遺伝子SOD1、C9orf72、TARDBP、FUS、ANG、ATXN2、CHCHD10、CHMP2B、DCTN1、Erbb4、FIG4、HNRPA1、MATR3、NEFH、OPTN、PFN1、PRPH、SETX、SIGMAR1、SMN1、SPG11、SQSTM1、TBK1、TRPM7、TUBA4A、UBQLN2、VAPB、およびVCPにおける突然変異を含む。

40

【0420】

前頭側頭型認知症

前頭側頭型認知症（FTD）は、脳の前頭葉および側頭葉に影響する認知症の形態であ

50

る。FTDは、前頭側頭葉変性症（FTLD）を含む。それは、アルツハイマー病よりも早い開始の平均年齢、40歳を有する。FTDの症状は、行動および人格における極度の変化、発話および言語の問題、ならびに運動関連症状、例えば振戦、硬直、筋攣縮、虚弱、および嚥下困難を含む。FTDのサブタイプは、人格および行動の変化により特徴づけられる行動障害型前頭側頭型認知症（behavior variant frontotemporal dementia; bvFTD）、ならびに言語能力、発話、書字、および理解に影響する原発性進行性失語症（PPA）を含む。FTDは、タウタンパク質の蓄積（ピック体）および変更されたTDP43機能と関連付けられる。FTDの症例の約30%は家族性であり、疾患の家族歴以外の他のリスク因子は知られていない。FTDと関連付けられる遺伝子突然変異は、遺伝子C9orf72、プログラニュリン（GRN）、微小管関連タンパク質タウ（MAPT）、UBQLN2、VPC、CHMP2B、TARDBP、FUS、ITM2B、CHCHD10、SQSTM1、PSEN1、PSEN2、CTSF、CYP27A1、TBK1およびTBPにおける突然変異を含む。

10

【0421】

前頭側頭型認知症を伴う筋萎縮性側索硬化症

前頭側頭型認知症を伴う筋萎縮性側索硬化症（FTDを伴うALS）は、FTDおよびALSが同じ個体において起こる臨床症候群である。興味深いことに、C9orf72における突然変異は、ALSおよびFTDの家族性形態の最も一般的な原因である。追加的に、TBK1、VCP、SQSTM1、UBQLN2およびCHMP2Bにおける突然変異もまた、FTDを伴うALSと関連付けられる。FTDを伴うALSの症状は、人格の劇的な変化の他に、筋力低下、筋萎縮、線維束性攣縮、痙縮、構音障害、嚥下障害、ならびに脊髄、運動ニューロン、および脳の前頭葉および側頭葉の変性を含む。分子レベルにおいて、FTDを伴うALSは、TDP-43および／またはFUSタンパク質の蓄積により特徴づけられる。TBK1突然変異は、ALS、FTD、およびFTDを伴うALSと関連付けられる。

20

【0422】

辺縁系の主な年齢に関連するTDP-43脳症（LATE）

辺縁系の主な年齢に関連するTDP-43脳症（LATE）は、脳、特に、辺縁系におけるミスフォールドされたTDP-43タンパク質の蓄積によって特徴づけられる。LATEは、高齢の患者（例えば、80歳より高齢）において典型的に現れる神経学的疾患である。LATEは、認知症の診断であり得、LATEは、記憶喪失、錯乱、および気分変動を含むアルツハイマー病の症状に大抵似る。

30

【0423】

処置方法

STMN2 AONを投与するステップを含む、それを必要とする患者におけるさらなるもの（例えば、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、前頭側頭型認知症（FTD）、アルツハイマー病（AD）、パーキンソン病（PD）、ハンチントン病、進行性核上まひ（PSP）、脳外傷、脊髄損傷、大脳皮質基底核変性症（CBD）、および辺縁系の主な年齢に関連するTDP-43脳症（LATE））。一部の実施形態では、それを必要とする患者における神経学的疾患の処置方法であって、開示されるSTMN2 AONを投与することを含む方法が本明細書において提供される。本開示の一部の実施形態では、有効量の開示されるSTMN2オリゴヌクレオチドは、神経学的疾患を処置するため、ならびに／または翻訳されて機能的STMN2タンパク質を産生し、それによりSTMN2の活性および／もしくは機能を増加、回復、もしくは安定化させることができるSTMN2 mRNAの発現を増加、回復、もしくは安定化させるためにそれを必要とする患者に投与されてもよい。

40

【0424】

一部の実施形態では、神経学的疾患を処置することは、神経学的疾患と関連付けられる1つの症状を少なくとも改善し、または低減させること（例えば、ALSを有する患者における筋力低下を低減させること）を含む。それを患う患者における神経学的疾患（例え

50

ば、ALS、FTD、またはFTDを伴うALS）を処置する方法であって、開示されるSTMN2 AONを投与することを含む方法が提供される。一部の実施形態では、神経学的疾患、例えば、運動ニューロン疾患の進行を緩慢化させる方法が提供される。

【0425】

それを必要とする対象において神経学的疾患を処置し、それを発症するリスクを低減させ、またはその開始を遅延させる方法であって、開示されるSTMN2 AONを投与することを含む方法が本明細書において提供される。方法は、例えば、神経学的疾患を発症するリスクがある対象を処置すること；例えば、対象に有効量の開示されるSTMN2 AONを投与することを含む。この方式において処置され得る神経学的疾患は、運動ニューロン疾患、ALS、FTD、FTDを伴うALS、進行性球麻痺、仮性球麻痺、進行性筋萎縮症、原発性側索硬化症、脊髄性筋萎縮症、およびポストポリオ症候群を含む。

10

【0426】

神経学的疾患（例えば、PD、ALS、FTD、およびFTDを伴うALS）を予防または処置する方法は本開示の部分を形成する。そのような方法は、それを必要とする患者またはリスクがある患者に、本明細書に開示されるSTMN2 AONを含む薬学的調製物を投与することを含んでもよい。例えば、神経学的疾患を予防または処置する方法であって、それを必要とする患者に本明細書に開示されるSTMN2 AONを投与することを含む方法が提供される。

【0427】

上記の方法を使用して処置される患者は、STMN2 オリゴヌクレオチドを投与した後に、例えば、1日、2日、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、1か月、2か月、3か月、4か月、5か月、もしくは6か月後またはそれよりも後に、翻訳されて機能的STMN2 タンパク質を産生し、それにより標的細胞（例えば、運動ニューロン）においてSTMN2 の活性および／または機能を増加、回復、または安定化させることができるSTMN2 mRNA発現の、少なくとも約5%、10%、20%、30%、40%またはさらには50%の増加、回復、または安定化を経験してもよい。一部の実施形態では、このようなSTMN2 オリゴヌクレオチドの投与は、例えば、少なくとも毎日であってもよい。STMN2 オリゴヌクレオチドは、経口投与されてもよい。一部の実施形態では、STMN2 オリゴヌクレオチドは、くも膜下腔内、視床内、または大槽内投与される。例えば、本明細書に記載される実施形態では、STMN2 オリゴヌクレオチドは、およそ3か月毎にくも膜下腔内、視床内または大槽内投与される。本明細書に開示されるSTMN2 オリゴヌクレオチドの投与の結果として患者における神経学的疾患の臨床症状の遅延または回復は、本明細書に開示されるものなどの、STMN2 オリゴヌクレオチドが投与されていない患者と比較して、少なくとも例えば、6か月、1年、18か月またはたとえ2年以上であり得る。

20

30

【0428】

STMN2 オリゴヌクレオチドは、単独または互いに組合せて使用することができ、それにより、少なくとも2つのSTMN2 オリゴヌクレオチドは、単一の組成物において、または処置レジメンの一部として一緒に使用される。STMN2 オリゴヌクレオチドはまた、神経学的疾患または状態を処置するための他の薬物またはAONと組合せて使用されてもよい。

40

【0429】

様々な実施形態では、それを必要とする対象における筋萎縮性側索硬化症（ALS）を処置するための方法が本明細書において開示され、方法は、対象に、多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含むオリゴヌクレオチドを投与するステップを含み、オリゴヌクレオチドは、配列番号1～466、配列番号893～1338、配列番号1342～1366、および配列番号1392～1664、または薬学的に許容されるその塩のいずれか1つと少なくとも85%の同一性を共有し；オリゴヌクレオチドの少なくとも1つ（すなわち、1つまたは複数）のヌクレオシド結合は、ホスホジエステル結合、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホ

50

トリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィナート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホラミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、ホスホロジアミデート結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合からなる群から独立して選択され、および／または少なくとも1つ（すなわち、1つまたは複数）のヌクレオシドは、2'-O-（2-メトキシエチル）ヌクレオシド、2'-O-メチルヌクレオシド、2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオシド、2'-フルオロ-β-D-アラビノヌクレオシド、ロックド核酸（LNA）、三環式核酸、拘束メトキシエチル（cMOE）、拘束エチル（cET）、およびペプチド核酸（PNA）からなる群から選択される成分で置換されており、任意選択で、オリゴヌクレオチドは、スパーサーをさらに含む。

10

【0430】

様々な実施形態では、それを必要とする対象における前頭側頭型認知症（FTD）を処置するための方法が本明細書に開示され、方法は、対象に、多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含むオリゴヌクレオチドを投与するステップを含み、オリゴヌクレオチドは、配列番号1～466、配列番号893～1338、配列番号1342～1366、および配列番号1392～1664、または薬学的に許容されるその塩のいずれか1つと少なくとも85%の同一性を共有し、オリゴヌクレオチドの少なくとも1つ（すなわち、1つまたは複数）のヌクレオシド結合は、ホスホジエステル結合、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィナート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホラミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、ホスホロジアミデート結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合からなる群から独立して選択され、および／または少なくとも1つ（すなわち、1つまたは複数）のヌクレオシドは、2'-O-（2-メトキシエチル）ヌクレオシド、2'-O-メチルヌクレオシド、2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオシド、2'-フルオロ-β-D-アラビノヌクレオシド、ロックド核酸（LNA）、三環式核酸、拘束メトキシエチル（cMOE）、拘束エチル（cET）、およびペプチド核酸（PNA）からなる群から選択される成分で置換されており、任意選択で、オリゴヌクレオチドは、スパーサーをさらに含む。

20

30

【0431】

様々な実施形態では、それを必要とする対象における前頭側頭型認知症（FTD）を伴う筋萎縮性側索硬化症（ALS）を処置するための方法が本明細書に開示され、方法は、対象に、多くとも7個の結合型ヌクレオシドを有するセグメントを含むオリゴヌクレオチドを投与するステップを含み、オリゴヌクレオチドは、配列番号1～466、配列番号893～1338、配列番号1342～1366、および配列番号1392～1664、または薬学的に許容されるその塩のいずれか1つと少なくとも85%の同一性を共有し；オリゴヌクレオチドの少なくとも1つ（すなわち、1つまたは複数）のヌクレオシド結合は、ホスホジエステル結合、ホスホロチオエート結合、アルキルホスフェート結合、ホスホロジチオエート結合、ホスホトリエステル結合、アルキルホスホネート結合、3-メトキシプロピルホスホネート結合、メチルホスホネート結合、アミノアルキルホスホトリエステル結合、アルキレンホスホネート結合、ホスフィナート結合、ホスホルアミデート結合、ホスホラミドチオエート結合、チオホスホロジアミデート結合、ホスホロジアミデート結合、アミノアルキルホスホルアミデート結合、チオホスホルアミデート結合、チオノアルキルホスホネート結合、チオノアルキルホスホトリエステル結合、チオホスフェート結

40

50

合、セレノホスフェート結合、およびボラノホスフェート結合からなる群から独立して選択され、および／または少なくとも1つ（すなわち、1つまたは複数）のヌクレオシドは、2'-O-（2'-メトキシエチル）ヌクレオシド、2'-O-メチルヌクレオシド、2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオシド、2'-フルオロ-β-D-アラビノヌクレオシド、ロックド核酸（LNA）、三環式核酸、拘束メトキシエチル（cMOE）、拘束エチル（cET）、およびペプチド核酸（PNA）からなる群から選択される成分で置換されており、任意選択で、オリゴヌクレオチドは、スパーサーをさらに含む。

【0432】

処置および評価

本明細書に記載されるような患者は、神経学的疾患のリスクがある、それを患うまたはそれを有すると診断された任意の動物を指し、該動物は、哺乳動物、霊長動物、およびヒトを含むがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、患者は、非ヒト哺乳動物、例えば、ネコ、イヌ、またはウマなどであってもよい。患者は、神経学的疾患を発症するリスクが高いと診断された個人、神経学的疾患であると診断された個人、神経学的疾患に既を患う個人、または神経学的疾患の症状もしくは徴候、例えば、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、前頭側頭型認知症（FTD）、FTDを伴うALS、アルツハイマー病（AD）、パーキンソン病（PD）、ハンチントン病、進行性核上まひ（PSP）、脳外傷、脊髄損傷、大脳皮質基底核変性症（CBD）、神経損傷（例えば、腕神経叢損傷）、ニューロパシー（例えば、化学療法誘発性のニューロパシー）、ならびにTDP43タンパク質症（例えば、慢性外傷性脳症、ペリー症候群、アルツハイマー病に関連するレビー小体を伴う認知症、認知症を伴うか、もしくは伴わないパーキンソン病、および辺縁系の主な年齢に関連するTDP-43脳症（LATE））などの神経学的疾患と関連する徴候または症状のいずれかについて調べられた個人であってもよい。

【0433】

「必要とする患者」は、本明細書において使用される場合、神経学的疾患の任意の症状もしくは発現を患う患者、神経学的疾患の任意の症状もしくは発現を患い得る患者、または神経学的疾患を処置するために本開示の方法から利益を受ける可能性がある任意の患者を指す。必要とする患者は、神経学的疾患を発症するリスクを有すると診断された患者、過去に神経学的疾患を患っていた患者、または神経学的疾患について以前に処置された患者を含んでもよい。

【0434】

「有効量」は、本明細書において使用される場合、患者に投与された場合に状態を少なくとも部分的に処置するために十分な剤の量を指す。治療有効量は、状態の重症度、成分の投与の経路、および処置されている患者の年齢、体重などに依存して変動する。よって、開示されるSTMN2オリゴヌクレオチドの有効量は、患者における神経学的疾患を処置するために必要なSTMN2オリゴヌクレオチドの量であって、剤の投与が、神経学的疾患が対象において起こることを予防し、神経学的疾患の進行を予防し（例えば、神経学的な症状、例えば筋力低下、攣縮、もしくは線維束性攣縮の開始もしくは重症度の増加を予防し）、または神経学的疾患のすべての関連付けられる症状を緩和もしくは完全に改善し、すなわち、疾患の退縮を引き起こすような量である。

【0435】

処置の有効性は、神経学的疾患と関連付けられる肉眼的症状の評価の手段、組織構造の分析、生化学的アッセイ、イメージング方法、例えば、磁気共鳴イメージングなど、または他の公知の方法により評価されてもよい。例えば、処置の有効性は、神経学的疾患を患う患者への、開示されるSTMN2オリゴヌクレオチドの投与後の疾患の肉眼的症状、例えば筋肉の強度および制御または神経学的疾患と関連付けられる肉眼的病理の他の態様における変化を分析することにより評価されてもよい。

【0436】

処置の有効性はまた、例えば、組織生検（例えば、脳、脊髄、筋肉、運動ニューロン組織生検、または嗅覚ニューロスフェア細胞生検）を得、肉眼的組織もしくは細胞形態また

10

20

30

40

50

は染色特性を評価する手段により、組織または細胞レベルで評価されてもよい。タンパク質またはRNA発現を調べる生化学的アッセイもまた、処置の有効性を評価するために使用されてもよい。例えば、免疫細胞化学、免疫組織化学、ウェスタンブロッティング、もしくはノーザンブロッティング法、またはRNAレベルを評価するために有用な方法、例えば定量的もしくは半定量的ポリメラーゼ連鎖（例えば、デジタルPCR（Digital PCR、dPCR、もしくはdePCR）、qPCRなど）反応を介して解離細胞または非解離組織中で、神経学的疾患の指標となるタンパク質または遺伝子産物のレベルを評価してもよい。また、脊髄液、脳脊髄液、細胞外小胞（例えば、エクソソーム様脳脊髄液細胞外小胞（exosome-like cerebrospinal fluid extracellular vesicles；「CSFエクソソーム」）、例えばWelton et al., (2017) “Cerebrospinal fluid extracellular vesicle enrichment for protein biomarker discovery in neurological disease; multiple sclerosis” J Extracell Vesicles., 6(1):1-10；およびStreet et al., (2012) “Identification and proteomic profiling of exosomes in human cerebrospinal fluid” J Transl. Med., 10:5),に記載されるもの、尿、糞便物、リンパ液、血液、血漿、または血清に見出される有用なバイオマーカー（例えば、ニューロフィラメント軽鎖（NEFL）、ニューロフィラメント重鎖（NEFH）、TDP-43またはp75細胞外ドメイン（p75^{ECD}））の存在または発現のレベルを評価して、疾患状態および処置の有効性を評価してもよい。また、血漿、ニューロン細胞外小胞／エクソソームに見出される有用なバイオマーカーの存在または発現のレベルを評価してもよい。有効性の追加の測定は、強度持続時間定数（strength duration time constant；SDTC）、短間隔皮質内抑制（SICI）、筋力測定、四肢等尺性筋力の正確な試験（accurate test of limb isometric strength；ATLIS）、複合筋活動電位（CMAP）、およびALSFRS-Rを含んでもよい。ある特定の実施形態では、泌尿器ニューロトロフィン受容体p75細胞外ドメイン（p75^{ECD}）は筋萎縮性側索硬化症（ALS）における疾患進行および予後バイオマーカーである。脳脊髄液（CSF）中のリン酸化ニューロフィラメント重鎖（pNFH）はC9ORF72関連筋萎縮性側索硬化症（c9ALS）患者における疾患状態および生存を予測する。臨床試験用の予後バイオマーカーとしてのCSF pNFHは、c9ALSの処置を成功裏に開発する可能性を増加させる。

【0437】

処置の有効性の評価において、有効な評価を確実にするために好適な対照が選択されてもよい。例えば、開示されるSTMN2オリゴヌクレオチドの投与後に神経学的疾患を有する患者において評価された症状を、処置前もしくは処置の過程中的より早い時点の同じ患者における、または神経学的疾患を有すると診断されていない別の患者におけるそれらの症状に対して比較することができる。代替的に、開示されるSTMN2オリゴヌクレオチドの投与後の組織の生化学的または組織学的分析の結果を、同じ患者からまたは神経学的疾患を有すると診断されていない個体からまたはSTMN2オリゴヌクレオチドの投与前の同じ患者からの組織の該結果と比較してもよい。追加的に、STMN2オリゴヌクレオチドの投与後の血液、血漿、血清、細胞、尿、リンパ液、脊髄液、脳脊髄液、または糞便試料を、神経学的疾患を有すると診断されていない個体からまたはSTMN2オリゴヌクレオチドの投与前の同じ患者からの同等の試料と比較してもよい。一部の実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドの投与後の細胞外小胞（例えばCSFエクソソーム）を、神経学的疾患を有すると診断されていない個体からまたはSTMN2オリゴヌクレオチドの投与前の同じ患者からの細胞外小胞と比較してもよい。

【0438】

STMN2オリゴヌクレオチドの検証は、STMN2発現レベルまたは活性の直接または間接的評価によって決定されてもよい。例えば、STMN2タンパク質またはRNA発現を測定する生化学的アッセイを使用して、配列番号1339または配列番号1341に対して、少なくとも90%（例えば、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%）の同一性を共有する配列を含むS

STMN2 転写物（例えば、隠れエクソンを含む STMN2 プレ mRNA）に対する全体的な評価を評価してもよい。例えば、ウエスタンブロットにより細胞または組織中の STMN2 タンパク質レベルを測定して全体的な STMN2 レベルを評価してもよい。配列番号 1339 または配列番号 1341 に対して、少なくとも 90%（例えば、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100%）の同一性を共有する配列を含む STMN2 転写物（例えば、隠れエクソンを含む STMN2 プレ mRNA）に対する全体的な効果を決定するためのノーザンブロットまたは定量的ポリメラーゼ連鎖反応手段により、STMN2 mRNA レベルを測定してもよい。また、免疫細胞化学的または免疫組織化学的方法を介して解離細胞、非解離組織、細胞外小胞（例えば、CSF エクソソーム）、血液、血清、または糞便物中の STMN2 タンパク質レベルまたは STMN2 シグナル伝達活性の指標となる別のタンパク質のレベルを評価してもよい。

10

【0439】

配列番号 1339 または配列番号 1341 に対して、少なくとも 90%（例えば、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100%）の同一性を共有する配列を含む STMN2 転写物（例えば、隠れエクソンを含む STMN2 プレ mRNA）の発現レベルの調整はまた、オートファジー、エンドサイトーシス、タンパク質凝集、および血漿、脊髄液、脳脊髄液、細胞外小胞（例えば、CSF エクソソーム）、血液、尿、リンパ液、糞便物、または組織中に見出される有用なバイオマーカー（例えば、ニューロフィラメント軽鎖（NEFL）、ニューロフィラメント重鎖（NEFH）、TDP-43、もしくは p75^{EC}）の発現の存在またはレベルなどのパラメーターを測定して、配列番号 1339 または配列番号 1341 に対して、少なくとも 90%（例えば、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100%）の同一性を共有する配列を含む STMN2 転写物（例えば、隠れエクソンを含む STMN2 プレ mRNA）の発現の調整を評価することによって、評価されてもよい。配列番号 1339 または配列番号 1341 に対して、少なくとも 90%（例えば、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100%）の同一性を共有する配列を含む STMN2 転写物（例えば、隠れエクソンを含む STMN2 プレ mRNA）の発現レベルの調整はまた、オートファジー、エンドサイトーシス、タンパク質凝集、および複合筋活動電位（CMAP）などの生理学的バイオマーカーの発現の存在またはレベルなどのパラメーターを測定することによって直接評価されてもよい。追加の測定は、強度持続時間定数（SDTC）、短間隔皮質内抑制（SICI）、157 ピロリジニル、四肢等尺性筋力の正確な試験（ATLIS）、複合筋活動電位、および ALSFRS-R を含んでもよい。ある特定の実施形態では、泌尿器ニューロトロフィン受容体 p75 細胞外ドメイン（p75^{EC}）は筋萎縮性側索硬化症（ALS）における疾患進行および予後バイオマーカーである。脳脊髄液（CSF）中のリン酸化ニューロフィラメント重鎖（pNFH）は c9ALS 患者における疾患状態および生存を予測する。臨床試験用の予後バイオマーカーとしての CSF pNFH は、c9ALS の処置を成功裏に開発する可能性を増加させる。

20

30

【0440】

本開示はまた、神経学的疾患を患う患者の細胞における全長 STMN2 転写物の発現を回復させる方法を提供する。全長 STMN2 転写物は、神経系（中枢神経系（例えば、脊髄または脳）、抹消神経系、運動ニューロン、グリア細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイト、ミクログリア、脳、脳幹、前頭葉、側頭葉、脊髄を含む）、骨格筋、脊髄液、および脳脊髄液の細胞を含む、STMN2 発現または活性が生じる任意の細胞において回復されてもよい。筋骨格系の細胞は骨格筋細胞（例えば、筋細胞）を含む。運動ニューロンは上位運動ニューロンおよび下位運動ニューロンを含む。

40

【0441】

医薬組成物および投与の経路

本開示はまた、開示される STMN2 オリゴヌクレオチドを含む医薬組成物の投与を介

50

して神経学的疾患を処置する方法を提供する。別の態様では、本開示は、神経学的疾患の処置における使用のための医薬組成物を提供する。医薬組成物は、開示されるSTMN2オリゴヌクレオチド、および薬学的に許容される担体を含んでもよい。本明細書において使用される場合、「医薬組成物」という用語は、例えば、神経学的疾患を処置するために、哺乳動物、例えば、ヒトに投与される薬学的に許容される担体中に指定される量の治療用化合物、例えば、治療有効量の治療用化合物を含有する混合物を意味する。一部の実施形態では、開示されるSTMN2オリゴヌクレオチド、および薬学的に許容される担体を含む医薬組成物が本明細書において記載される。別の態様では、本開示は、神経学的疾患を処置するための医薬の製造における、開示されるSTMN2オリゴヌクレオチドの使用を提供する。「医薬」は、本明細書において使用される場合、「医薬組成物」という用語と本質的に同じ意味を有する。

10

【0442】

本明細書において使用される場合、「薬学的に許容される担体」は、合理的なベネフィット／リスク比に見合う過度の毒性、刺激、アレルギー性応答、または他の問題もしくは合併症なしで人間および動物の組織との接触における使用のために好適な緩衝剤、担体、および賦形剤を意味する。担体は、製剤の他の成分と適合性であり、かつレシipientに対して有害でないという意味において「許容される」ものであるべきである。薬学的に許容される担体は、薬学的投与と適合性の、緩衝剤、溶媒、分散媒体、コーティング、等張剤および吸収遅延剤などを含む。薬学的に活性の物質のためのそのような媒体および剤の使用は当該技術分野において公知である。1つの実施形態では、医薬組成物は経口投与され、消化器系または腸内での被包された物質の吸収の部位を調節するために好適な腸溶性コーティングを含む。例えば、腸溶性コーティングはエチルアクリル酸－メタクリル酸コポリマーを含むことができる。

20

【0443】

1つの実施形態では、開示されるSTMN2オリゴヌクレオチドおよびその任意の医薬組成物は、1またはいくつかの経路により投与されてもよく、該経路は、局所、髄腔内、視床内、大槽内、非経口、経口、直腸内、頬側、舌下、腔内、肺内、気管内、鼻腔内、経皮、または十二指腸内への経路を含んでもよい。非経口という用語は、本明細書において使用される場合、皮下注射、腓内投与、静脈内、大槽内、脳室内、髄腔内、視床内、筋肉内、腹腔内、胸骨内注射または注入技術を含む。例えば、開示されるSTMN2オリゴヌクレオチドは対象の皮下に投与されてもよい。別の例では、開示されるSTMN2オリゴヌクレオチドは対象に経口投与されてもよい。別の例では、開示されるSTMN2オリゴヌクレオチドは、非経口投与を介して神経系、または神経系の特有の領域もしくは細胞（例えば、脳、脳幹、下位運動ニューロン、脊髄、上位運動ニューロン）に直接的に投与されてもよく、例えば、開示されるSTMN2オリゴヌクレオチドは髄腔内、視床内、または大槽内投与されてもよい。

30

【0444】

様々な実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチド、例えば、STMN2 AONは、投与に先立ち、カルシウム含有緩衝液に曝露され得る。このようなカルシウム含有緩衝液は、STMN2オリゴヌクレオチドの有害効果を軽減することができる。例となるアンチセンスオリゴヌクレオチドのカルシウム含有緩衝液への曝露のさらなる詳細は、参照により全体が本明細書に組み込まれるMoazami, et al., Quantifying and Mitigating Motor Phenotypes Induced by Antisense Oligonucleotides in the Central Nervous System, bioRxiv 2021.02.14.431096に記載される。

40

【0445】

一部の実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチド、例えばSTMN2 AONは、ナノ粒子コーティング中に被包され得る。ナノ粒子被包は、AONの分解を予防し、かつ細胞内取込みを増強すると考えられる。例えば、一部の実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドは、カチオンポリマー、例えば、合成ポリマー（例えば、ポリ－L－リシン、ポリアミドアミン、ポリ（β－アミノエステル）、およびポリエチレンジアミン）または

50

天然に存在するポリマー（例えば、キトサンおよびプロタミン）のコーティング中に被包される。一部の実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドは、脂質または脂質様材料、例えば、陽イオン性脂質、陽イオン性脂質様材料、または酸性pHにおいてのみ正に荷電するイオン化可能な脂質中に被包される。例えば、一部の実施形態では、STMN2オリゴヌクレオチドは、疎水性部分、例えば、コレステロールおよび／またはポリエチレングリコール（PEG）脂質を含む脂質ナノ粒子中に被包される。

【0446】

本明細書に開示されるSTMN2オリゴヌクレオチドなどの、開示されるSTMN2オリゴヌクレオチドを含有する医薬組成物は、投薬単位形態で提示することができ、任意の適当な方法によって調製することができる。医薬組成物は、投与の意図される経路と適合性であるように製剤化されるべきである。有用な製剤は、薬学分野において周知の方法により調製され得る。例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed. (Mack Publishing Company, 1990)を参照。

10

【0447】

薬学的製剤は、一部の実施形態では、無菌である。滅菌は、例えば、無菌濾過膜を通じた濾過により達成され得る。組成物が凍結乾燥される場合、濾過滅菌は凍結乾燥および復元の前または後に実行され得る。

【0448】

非経口投与

本開示の医薬組成物は、非経口投与のために製剤化され得る、例えば、静脈内、大槽内、脳室内、筋肉内、皮下、髄腔内、視床内、病変内、または腹腔内経路を介する注射のために製剤化され得る。開示されるSTMN2オリゴヌクレオチドを含有する水性組成物、例えば水性医薬組成物の調製は、本開示に照らして当業者に公知である。典型的には、このような組成物は、液体溶液または懸濁液後ズレかとして、注射可能なものとして調製することができ、注射の前に液体への添加の際に、溶液または懸濁液を調製するために使用するのに適する固体形態もまた調製することができ、調製物はまた、乳化することもできる。

20

【0449】

注射的な使用のために好適な薬学的形態は、無菌水性溶液または分散体；生理食塩水、人工脳脊髄液、ゴマ油、ピーナッツ油または水性プロピレングリコールを含む製剤；および無菌注射溶液または分散体の即席調製用の無菌粉末を含む。すべての場合において形態は無菌でなければならず、容易な注射針通過性が存在する程度まで流体でなければならない。それは、製造および貯蔵の条件下で安定でなければならず、微生物、例えば細菌および真菌の夾雑作用から保護されなければならない。

30

【0450】

遊離塩基または薬理学的に許容される塩としての活性化合物の溶液は、界面活性剤、例えばヒドロキシプロピルセルロースと好適に混合されて水中で調製され得る。分散体はまた、グリセロール、液体ポリエチレングリコール、およびこれらの混合物中ならびに油中で調製され得る。追加的に、無菌の固定油が溶媒または懸濁媒体として用いられてもよい。この目的のために合成モノまたはジグリセリドを含む任意のブランド固定油が用いられ得る。追加的に、脂肪酸、例えばオレイン酸が注射剤の調製において使用され得る。無菌注射用調製物はまた、非毒性の非経口的に許容される希釈剤または溶媒中の、例えば、1, 3-ブタンジオール中の溶液としての、無菌注射用溶液、懸濁液、またはエマルションであってもよい。用いられてもよい許容されるビヒクルおよび溶媒の中には、水、リンゲル溶液、U.S.P.、および等張性塩化ナトリウム溶液がある。1つの実施形態では、開示されるSTMN2アンチセンスオリゴヌクレオチドは、1% (w/v) のカルボキシメチルセルロースナトリウムおよび0.1% (v/v) のTWEEN（登録商標）80を含む担体流体中に懸濁されてもよい。貯蔵および使用の通常の条件下で、これらの調製物は、微生物の増殖を予防するために防腐剤を含有する。

40

【0451】

50

注射用調製物、例えば、無菌注射用水性または油性懸濁液は、好適な分散または湿潤剤および懸濁化剤を使用して公知技術にしたがって製剤化されてもよい。一般に、分散体は、様々な滅菌された活性成分を、上記に列記されるものからの基本的な分散媒体および要求される他の成分を含有する無菌媒体に組み込むことにより調製される。本開示の無菌注射用溶液は、開示される S T M N 2 アンチセンスオリゴヌクレオチドを、要求される量の適切な溶媒中に、要求に応じて上記に列記される様々な他の成分と共に組み込み、続いて濾過滅菌を行うことにより調製されてもよい。無菌注射用溶液の調製用の無菌粉末の場合、調製の好ましい方法は真空乾燥およびフリーズドライ技術であり、これは、以前に無菌濾過されたその溶液から活性成分および任意の追加の所望の成分の粉末をもたらす。注射用製剤は、例えば、細菌保持フィルターを通じた濾過により滅菌され得る。

10

【0452】

筋肉内注射用のよりまたは高度に濃縮された溶液の調製もまた想定される。これに関して、溶媒としての D M S O の使用は好ましく、それは、これは極めて迅速な透過を結果としてもたらし、高濃度の、開示されるオリゴヌクレオチドを小さい区画に送達するからである。

【0453】

そのような溶液における使用のための好適な防腐剤は、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、クロロブタノール、およびチメロサルなどを含む。好適な緩衝剤は、約 p H 6 ~ p H 8、例えば、約 p H 7 ~ p H 7.5 に p H を維持するために十分な量で、ホウ酸、重炭酸ナトリウムおよびカリウム、ホウ酸ナトリウムおよびカリウム、炭酸ナトリウムおよびカリウム、酢酸ナトリウム、ならびに重リン酸ナトリウムなどを含む。好適な張度剤は、デキストラン 40、デキストラン 70、デキストロース、グリセリン、塩化カリウム、プロピレングリコール、および塩化ナトリウムなどであり、溶液の塩化ナトリウム当量は、0.9 プラスまたはマイナス 0.2 % の範囲内である。好適な抗酸化剤および安定化剤は、重亜硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、161 ピロリジニルナトリウム、およびチオ尿素などを含む。好適な湿潤および清澄化剤は、ポリソルベート 80、ポリソルベート 20、ポロキサマー 282 およびチロキサポールを含む。好適な粘度増加剤は、デキストラン 40、デキストラン 70、ゼラチン、グリセリン、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシメチルプロピルセルロース、ラノリン、メチルセルロース、ワセリン、ポリエチレングリコール、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、およびカルボキシメチルセルロースなどを含む。

20

30

【0454】

経口投与

一部の実施形態では、開示される S T M N 2 オリゴヌクレオチドの経口送達のために好適な組成物、例えば、S T M N 2 オリゴヌクレオチドを、例えば、患者の胃腸管に送達し得るような、腸溶性コーティング、例えば、胃耐性コーティングを含む錠剤が本明細書において想定される。

【0455】

例えば、配列番号 1339 または配列番号 1341 に対して、少なくとも 90 % (例えば、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 %) の同一性を共有する配列を含む S T M N 2 転写物を標的とする任意の配列番号 1 ~ 466、配列番号 893 ~ 1338、配列番号 1342 ~ 1366、および配列番号 1392 ~ 1664 によって表される開示される S T M N 2 オリゴヌクレオチド、例えば、S T M N 2 オリゴヌクレオチド、および薬学的に許容される賦形剤を含む顆粒を含む (例えば、下流から少なくとも部分的に形成される) 経口投与のための錠剤が提供されてもよい。そのような錠剤は、腸溶性コーティングでコーティングされていてもよい。想定される錠剤は、薬学的に許容される賦形剤、例えば充填剤、結合剤、崩壊剤、および／または滑沢剤の他に、着色剤、放出剤、コーティング剤、甘味剤、香味剤、例えばウィンターグリーン、オレンジ、キシリトール、ソルビトール、フルクトース、およびマルチデキストリン、ならびに芳香剤、防腐剤および／または抗酸化剤を含んでもよい。

40

50

【0456】

一部の実施形態では、よく考えられた医薬製剤は、配列番号1339または配列番号1341に対して、少なくとも90%（例えば、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%）の同一性を共有する配列を含むSTMN2転写物を標的とする配列番号1～466、配列番号893～1338、配列番号1342～1366、および配列番号1392～1664のいずれかによって表される開示されるSTMN2オリゴヌクレオチド、例えば、STMN2オリゴヌクレオチド、および薬学的に許容される塩を含む、粒子内フェーズを含む。一部の実施形態では、よく考えられた医薬製剤は、配列番号1339または配列番号1341に対して、少なくとも90%（例えば、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%）の同一性を共有する配列を含むSTMN2転写物を標的とする配列番号1～466、配列番号893～1338、配列番号1342～1366、および配列番号1392～1664のいずれかによって表される開示されるSTMN2オリゴヌクレオチド、例えば、STMN2オリゴヌクレオチド、および薬学的に許容される充填剤を含む、粒子内フェーズを含む。例えば、開示されるSTMN2オリゴヌクレオチドおよび充填剤は、任意選択で、他の賦形剤と一緒に混合され、顆粒に形成されてもよい。一部の実施形態では、顆粒内相は、湿式造粒を使用して形成されてもよく、例えば、液体（例えば、水）が、ブレンドされた、STMN2オリゴヌクレオチドおよび充填剤に加えられ、次に組合せが乾燥、製粉および／または篩分けされて顆粒が製造される。顆粒内相を達成するために他の製法が使用されてもよいことを当業者は理解する。

10

20

【0457】

一部の実施形態では、想定される製剤は顆粒外相を含み、顆粒外相は、1つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤を含み、かつ開示される製剤を形成させるために顆粒内相とブレンドされてもよい。

【0458】

開示される製剤は、充填剤を含む顆粒内相を含んでもよい。例示的な充填剤は、セルロース、ゼラチン、リン酸カルシウム、ラクトース、スクロース、グルコース、マンニトール、ソルビトール、微結晶セルロース、ペクチン、ポリアクリレート（polyacrylates）、デキストロース、酢酸セルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、部分アルファ化デンプン、炭酸カルシウム、およびこれらの組合せを含むその他のものを含むがこれらに限定されない。

30

【0459】

一部の実施形態では、開示される製剤は、顆粒内相、および／または、薬学的製剤の成分と一緒に保持するように一般に機能し得る結合剤を含む顆粒外相を含んでもよい。本開示の例示的な結合剤は、以下：デンプン、糖、セルロースまたは修飾セルロース、例えばヒドロキシプロピルセルロース、ラクトース、アルファ化トウモロコシデンプン、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、低置換ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、エチルセルロース、糖アルコールおよびこれらの組合せを含むその他のものを含み得るがこれらに限定されない。

40

【0460】

例えば、顆粒内相および／または顆粒外相を含む、想定される製剤は、崩壊剤、以下に限定されないが例えば、デンプン、セルロース、架橋ポリビニルピロリドン、デンプングリコール酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、アルギネート（alginates）、コーンスターチ、クロスカルメロースナトリウム、架橋カルボキシメチルセルロース、低置換ヒドロキシプロピルセルロース、アカシア、およびこれらの組合せを含むその他のものを含んでもよい。例えば、顆粒内相および／または顆粒外相は崩壊剤を含んでもよい。

【0461】

一部の実施形態では、想定される製剤は、開示されるSTMN2オリゴヌクレオチドお

50

よびマンニトール、微結晶セルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、およびデンプングリコール酸ナトリウムまたはこれらの組合せから選択される賦形剤を含む顆粒内相、ならびに微結晶セルロース、デンプングリコール酸ナトリウム、およびステアリン酸マグネシウムまたはこれらの混合物の1つまたは複数を含む顆粒外相を含む。

【0462】

一部の実施形態では、想定される製剤は滑沢剤を含んでもよく、例えば、顆粒外相は滑沢剤を含有してもよい。滑沢剤は、タルク、シリカ、脂肪、ステアリン、ステアリン酸マグネシウム、リン酸カルシウム、二酸化シリコン、ケイ酸カルシウム、リン酸カルシウム、コロイド状二酸化ケイ素、ステアリン酸金属塩、水添植物油、コーンスターチ、安息香酸ナトリウム、ポリエチレングリコール、酢酸ナトリウム、ステアリン酸カルシウム、ラウリル硫酸ナトリウム、塩化ナトリウム、ラウリル硫酸マグネシウム、タルク、およびステアリン酸を含むがこれらに限定されない。

10

【0463】

一部の実施形態では、薬学的製剤は腸溶性コーティングを含む。一般に、腸溶性コーティングは、薬物が消化管に沿って吸収される位置を制御する経口医薬品のためのバリアを作り出す。腸溶性コーティングは、pHにしたがって異なる速度で崩壊するポリマーを含んでもよい。腸溶性コーティングは、例えば、酢酸フタル酸セルロース、アクリル酸メチルメタクリル酸コポリマー、酢酸コハク酸セルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、メタクリル酸メチルメタクリル酸コポリマー、アクリル酸エチルメタクリル酸コポリマー、メタクリル酸コポリマーC型、ポリ酢酸ビニルフタレート、および酢酸フタル酸セルロースを含んでもよい。

20

【0464】

例示的な腸溶性コーティングは、Opadry（登録商標）AMB、Acryl-EZE（登録商標）、Eudragit（登録商標）グレードを含む。一部の実施形態では、腸溶性コーティングは、重量で想定される錠剤の約5%～約10%、約5%～約20%、8%～約15%、約8%～約20%、約10%～約20%、または約12%～約20%、または約18%を構成してもよい。例えば、腸溶性コーティングはアクリル酸エチルメタクリル酸コポリマーを含んでもよい。

【0465】

例えば、想定される実施形態では、重量で約0.5%～約70%、例えば、約0.5%～約10%、または約1%～約20%の開示されるSTMN2オリゴヌクレオチドまたはその薬学的に許容される塩を含むまたはから本質的になる錠剤が提供される。そのような錠剤は、例えば、重量で約0.5%～約60%のマンニトール、例えば、重量で約30%～約50%のマンニトール、例えば、重量で約40%のマンニトール；および／または重量で約20%～約40%の微結晶セルロース、または重量で約10%～約30%の微結晶セルロースを含んでもよい。例えば、開示される錠剤は、重量で約30%～約60%、例えば、約45%～約65%、または代替的に、重量で約5%～約10%の開示されるSTMN2オリゴヌクレオチド、約30%～約50%、または代替的に、重量で約5%～約15%のマンニトール、約5%～約15%の微結晶セルロース、約0%～約4%、または約1%～約7%のヒドロキシプロピルメチルセルロース、および重量で約0%～約4%、例えば、約2%～約4%のデンプングリコール酸ナトリウムを含む顆粒内相を含んでもよい。

30

40

【0466】

別の想定される実施形態では、開示されるSTMN2オリゴヌクレオチドの経口投与用の薬学的錠剤製剤は顆粒内相を含み、顆粒内相は、開示されるSTMN2 AONまたはその薬学的に許容される塩（例えばナトリウム塩）、および薬学的に許容される充填剤を含み、かつ該薬学的錠剤製剤はまた顆粒外相を含んでもよく、顆粒外相は、薬学的に許容される賦形剤、例えば崩壊剤を含んでもよい。顆粒外相は、微結晶セルロース、ステアリン酸マグネシウム、およびこれらの混合物から選択される成分を含んでもよい。医薬組成物はまた、錠剤の重量で約12%～20%の腸溶性コーティングを含んでもよい。例えば、経口的使用のための薬学的に許容される錠剤は、重量で0.5%～10%の開示される

50

STMN2 AON、例えば、開示されるSTMN2 AONまたはその薬学的に許容される塩、重量で約30%～50%のマニトール、重量で約10%～30%の微結晶セルロース、およびアクリル酸エチルメタクリル酸コポリマーを含む腸溶性コーティングを含んでもよい。

【0467】

別の例では、経口的使用のための薬学的に許容される錠剤は、重量で約5～約10%の開示されるSTMN2 AON、例えば、開示されるSTMN2 AONまたはその薬学的に許容される塩、重量で約40%のマニトール、重量で約8%の微結晶セルロース、重量で約5%のヒドロキシプロピルメチルセルロース、および重量で約2%のデンプングリコール酸ナトリウムを含む顆粒内相；重量で約17%の微結晶セルロース、重量で約2%のデンプングリコール酸ナトリウム、重量で約0.4%のステアリン酸マグネシウム；およびアクリル酸エチルメタクリル酸コポリマーを含む錠剤上の腸溶性コーティングを含む顆粒外相を含んでもよい。

10

【0468】

一部の実施形態では、医薬組成物は、重量で約13%または約15%、16%、17%または18%を構成する腸溶性コーティング、例えば、AcyrLEZE（登録商標）（例えば、参照により全体が本明細書に組み込まれるPCT国際公開第2010/054826号パンフレットを参照）を含有してもよい。

【0469】

コーティングが溶解し、活性成分が放出される速度はその溶解速度である。実施形態では、想定される錠剤は、例えば、7.2のpHを有するリン酸緩衝液中100rpmおよび37℃でUSP/EP Type 2装置（パドル）において試験された場合に、STMN2オリゴヌクレオチドの約50%～約100%を約120分～約240分後、例えば180分後に放出する溶解プロファイルを有してもよい。別の実施形態では、想定される錠剤は、例えば、1.0のpHを有する希HCl中100rpmおよび37℃でUSP/EP Type 2装置（パドル）において試験された場合に、STMN2オリゴヌクレオチドが120分後に実質的に放出されない溶解プロファイルを有してもよい。想定される錠剤は、別の実施形態では、例えば、6.6のpHを有するリン酸緩衝液中100rpmおよび37℃でUSP/EP Type 2装置（パドル）において試験された場合に、STMN2オリゴヌクレオチドの約10%～約30%、または約50%以下を30分後に放出する溶解プロファイルを有してもよい。

20

30

【0470】

一部の実施形態では、本明細書において提供される方法は、本明細書に開示される疾患および障害の処置を目的とする少なくとも1つの他の剤を投与することをさらに含んでもよい。1つの実施形態では、想定される他の剤が（例えば、逐次的または同時に）併用投与されてもよい。

【0471】

投薬量および投与の頻度

以下に記載される投薬量または量は、オリゴヌクレオチドまたはその薬学的に許容される塩のいずれかを指す。

40

【0472】

一部の実施形態では、本明細書に記載される方法は、STMN2アンチセンスオリゴヌクレオチド、例えば、STMN2オリゴヌクレオチド少なくとも1μg、少なくとも5μg、少なくとも10μg、少なくとも20μg、少なくとも30μg、少なくとも40μg、少なくとも50μg、少なくとも60μg、少なくとも70μg、少なくとも80μg、少なくとも90μg、または少なくとも100μgを投与するステップを含む。一部の実施形態では、方法は、STMN2アンチセンスオリゴヌクレオチド10mg～500mg、1mg～10mg、10mg～20mg、20mg～30mg、30mg～40mg、40mg～50mg、50mg～60mg、60mg～70mg、70mg～80mg、80mg～90mg、90mg～100mg、100mg～150mg、150mg

50

～200mg、200mg～250mg、250mg～300mg、300mg～350mg、350mg～400mg、400mg～450mg、450mg～500mg、500mg～600mg、600mg～700mg、700mg～800mg、800mg～900mg、900mg～1g、1mg～50mg、20mg～40mg、または1mg～500mgを投与するステップを含む。

【0473】

一部の実施形態では、本明細書に記載される方法は、開示されるSTMN2オリゴヌクレオチド約10mg、15mg、20mg、25mg、30mg、35mg、40mg、50mg、60mg、70mg、80mg、90mg、100mg、110mg、120mg、130mg、140mg、150mg、160mg、170mg、180mg、190mg、200mg、250mg、300mg、350mg、400mg、450mg、500mg、600mg、700mg、800mg、900mg、1g、1.5g、2.0g、2.5g、3.0g、3.5g、4.0g、4.5g、または5.0gを含む製剤を投与するステップを含む。一部の実施形態では、製剤は、約40mg、80mg、または160mgの、開示されるSTMN2オリゴヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、製剤は、少なくとも100μgの、開示されるSTMN2オリゴヌクレオチドを含んでもよい。例えば、製剤は、約0.1mg、0.2mg、0.3mg、0.4mg、0.5mg、1mg、5mg、10mg、15mg、20mg、25mg、または30mgの、開示されるSTMN2オリゴヌクレオチドを含んでもよい。投与される量は、変量、例えば処置されるべき疾患または兆候の種類および程度、患者の全体的な健康状態およびサイズ、STMN2オリゴヌクレオチドの*in vivo*効力、薬学的製剤、ならびに投与の経路に依存する。初期投薬量は、所望の血中レベルまたは組織レベルを迅速に達成するために上限レベルを上回って増加させることができる。代替的に、初期投薬量は、最適条件よりも少ないものであることができ、処置の過程の間に投薬量を漸進的に増加させてもよい。ヒトの投薬量は、例えば、従来のフェーズI用量漸増研究において、最適化され得る。投薬頻度は、要因、例えば投与の経路、投薬量および処置されている疾患に依存して変動することができる。例示的な投薬頻度は、1日1回、週1回および2週毎に1回である。一部の実施形態では、投薬は1日1回で7日間である。一部の実施形態では、投薬は、4週毎に1回、5週毎に1回、6週毎に1回、7週毎に1回、8週毎に1回、9週毎に1回、10週毎に1回、11週毎に1回、または12週毎に1回である。一部の

10

20

30

【0474】

併用療法

様々な実施形態では、本明細書に開示されるようなSTMN2 AONは、1つまたは複数の追加の療法と組み合わせて投与され得る。開示されるオリゴヌクレオチドおよび1つまたは複数のさらなる療法の併用療法は、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、前頭側頭型認知症（FTD）、FTDを伴うALS、アルツハイマー病（AD）、パーキンソン病（PD）、ハンチントン病、進行性核上まひ（PSP）、脳外傷、脊髄損傷、大脳皮質基底核変性症（CBD）、神経損傷（例えば、腕神経叢損傷）、ニューロパシー（例えば、化学療法誘発性のニューロパシー）、ならびにTDP43タンパク質症（例えば、慢性外傷性脳症、ペリー症候群、アルツハイマー病と関連するレビー小体を伴う認知症、認知症を伴うか、もしくは伴わないパーキンソン病、および辺縁系の主な年齢に関連するTDP43脳症（LATE））のいずれかの処置において相乗的であり得る。

40

【0475】

例となる追加の療法は、リルゾール（Rilutek）、エダラボン（Radicala）、リバスチグミン、ドネベジル、ガランタミン、選択的セロトニン再取込み阻害薬、抗精神病薬、コリンエステラーゼ阻害剤、メマンチン、ベンゾジアゼピン抗不安薬、AMX0035（ELYBRIO）、ZILUCOPLAN（RA101495）、プリドピジン、デュアルAON髄腔内投与剤（例えば、BIIB067、BIIB078、およびBIIB105）、BIIB100、レボドパ／カルビドパ、ドーパミン作動薬（例えば

50

、ロピニロール、プラミペキソール、ロチゴチン）、（メドロキシプロゲステロン、KCNQ2/KCNQ3 オープナー（例えば、レチガビン、XEN1101、またはQRL-101）、抗痙攣薬、および精神刺激剤のいずれかを含む。追加の療法は、ブリージングケア、物理療法、作業療法、言語障害療法、および栄養支援をさらに含むことができる。様々な実施形態では、追加の療法は第2のアンチセンスオリゴヌクレオチドであることができる。例として、第2のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、STMN2 転写物（例えば、STMN2 プレ mRNA、成熟 STMN2 mRNA）を標的化して、全長 STMN2 タンパク質の発現レベルをモジュレートしてもよい。

【0476】

様々な実施形態では、開示されるオリゴヌクレオチドおよび1つまたは複数の追加の療法は、互いにコンジュゲートされ、コンジュゲートされた形態において提供され得る。開示されるオリゴヌクレオチドを伴うコンジュゲートに関するさらなる説明は以下に記載される。様々な実施形態では、開示されるオリゴヌクレオチドおよび1つまたは複数の追加の療法は並行して提供される。様々な実施形態では、開示されるオリゴヌクレオチドおよび1つまたは複数の追加の療法は同時に提供される。様々な実施形態では、開示されるオリゴヌクレオチドおよび1つまたは複数の追加の療法は逐次的に提供される。

【0477】

コンジュゲート

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチド（例えば、STMN2 オリゴヌクレオチド）ならびに任意選択で1つまたは複数のコンジュゲート基および／または末端基を含むオリゴマー化合物が本明細書において提供される。コンジュゲート基は、1つまたは複数のコンジュゲート部分、およびコンジュゲート部分をオリゴヌクレオチドに連結するコンジュゲートリンカーを含む。コンジュゲート基は、オリゴヌクレオチドのいずれかもしくは両方の末端におよび／または任意の内部位置において取り付けられてもよい。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、修飾されるオリゴヌクレオチドのヌクレオシドの2'位に取り付けられる。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドのいずれかまたは両方の末端に取り付けられるコンジュゲート基は末端基である。ある特定のそのような実施形態では、コンジュゲート基または末端基はオリゴヌクレオチドの3'および／または5'末端において取り付けられる。ある特定のそのような実施形態では、コンジュゲート基（または末端基）はオリゴヌクレオチドの3'末端において取り付けられる。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基はオリゴヌクレオチドの3'末端の近くにおいて取り付けられる。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基（または末端基）はオリゴヌクレオチドの5'末端において取り付けられる。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基はオリゴヌクレオチドの5'末端の近くにおいて取り付けられる。

【0478】

末端基の例は、コンジュゲート基、キャッピング基、リン酸部分、保護基、修飾または非修飾ヌクレオシド、および独立して修飾されたまたは非修飾の2つまたはそれより多くのヌクレオシドを含むがこれらに限定されない。

【0479】

コンジュゲート基

ある特定の実施形態では、STMN2 AONは、1つまたは複数のコンジュゲート基に共有結合的に取り付けられる。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、取り付けられるオリゴヌクレオチドの1つまたは複数の特性を改変し、該特性は、薬力学、薬物動態、安定性、結合、吸収、組織分布、細胞内分布、細胞内取込み、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。特定の実施形態では、コンジュゲート基は、血流中でのオリゴヌクレオチドの循環時間を改変し（例えば、増加させ）、その結果、増加した濃度のオリゴヌクレオチドが脳に送達される。特定の実施形態では、コンジュゲート基は、標的臓器（例えば、脳）中でのオリゴヌクレオチドの滞留時間を改変し（例えば、滞留時間を増加させ）、その結果、オリゴヌクレオチドの増加した滞留時間はそれらの性能（例えば、有効性）を向上させる。特定の実施形態では、コンジュゲート基は、（例えば、

10

20

30

40

50

受容体媒介性トランスサイトosisを通じて) 血液脳関門および／または脳実質を通じた脳へのオリゴヌクレオチドの送達を増加させる。特定の実施形態では、コンジュゲート基は、オリゴヌクレオチドが特有の臓器(例えば、脳)を標的化することを可能にする。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、取り付けられるオリゴヌクレオチドに新たな特性を付与し、これは例えば、オリゴヌクレオチドの検出を可能にするフルオロフォアまたはレポーター基である。ある特定のコンジュゲート基およびコンジュゲート部分が以前に記載されており、例えば、コレステロール部分(Letsinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86, 6553-6556)、コール酸(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. NY. Acad. Sci., 1992, 660, 306-309; Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1993, 3, 2765-2770)、チオコレステロール(Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20, 533-538)、脂肪族鎖、例えば、ドデカンジオールもしくはウンデシル残基(Saison-Behmoaras et al., EMBO J, 1991, 10, 1111-1118; Kabanov et al., FEBS Lett., 1990, 259, 327-330; Svinarchuk et al., Biochimie, 1993, 75, 49-54)、リン脂質、例えば、ジ-ヘキサデシル-rac-グリセロールもしくはトリエチル-アンモニウム塩、2-ジ-0-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パルミチル部分(Mishra et al., Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264, 229-237)、オクタデシルアミン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)、トコフェロール基(Nishina et al., Molecular Therapy Nucleic Acids, 2015, 4, e220; and Nishina et al., Molecular Therapy, 2008, 16, 734-740)、またはGalNAcクラスター(例えば、国際公開第2014/179620号パンフレット)がある。

10

20

30

40

50

【0480】

コンジュゲート部分

コンジュゲート部分は、非限定的に、インターカレーター、レポーター分子、ポリアミン、ポリアミド、ペプチド、炭水化物、ビタミン部分、ポリエチレングリコール、チオエーテル、ポリエーテル、コレステロール、チオコレステロール、コール酸部分、フォレート(folate)、脂質、リン脂質、ビオチン、フェナジン、フェナントリジン、アントラキノン、アダマンタン、アクリジン、フルオレセイン、ローダミン、クマリン、フルオロフォア、および色素を含む。特定の実施形態では、コンジュゲート部分は、ペプチド、脂質、N-アセチルガラクトサミン(GalNAc)、コレステロール、ビタミンE、リポ酸、パントテン酸、ポリエチレングリコール、抗体(例えば、血液脳関門を通過するための抗体、例えば抗トランスフェリン受容体抗体)、または細胞透過性ペプチド(例えば、転写トランスアクチベーター(TAT)およびペネトラチン)から選択される。

【0481】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート部分は、活性薬物物質、例えば、アスピリン、ワルファリン、フェニルブタゾン、イブプロフェン、スプロフェン、フェンブフェン、ケトプロフェン、(S)-(+) -プラノプロフェン、カルプロフェン、ダンシルサルコシン、2,3,5-トリヨード安息香酸、フィンゴリモド、フルフェナム酸、フォリン酸、ベンゾチアジアジド、クロロチアジアジド、ジアゼピン、インドメタシン、バルビツレート、セファロsporin、サルファ薬、抗糖尿病剤、抗菌剤または抗生物質を含む。

【0482】

コンジュゲートリンカー

コンジュゲート部分は、コンジュゲートリンカーを通じてSTMN2 AONに取り付けられる。ある特定のオリゴマー化合物では、コンジュゲートリンカーは単一の化学結合

である（すなわち、コンジュゲート部分は単結合を通じてオリゴヌクレオチドに直接的に取り付けられる）。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、鎖構造、例えば、炭化水素鎖、または繰返し単位のオリゴマー、例えば、エチレングリコール、ヌクレオシド、もしくはアミノ酸単位を含む。

【0483】

ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、アルキル、アミノ、オキソ、アミド、ジスルフィド、ポリエチレングリコール、エーテル、チオエーテル、およびヒドロキシルアミノから選択される1つまたは複数の基を含む。ある特定のそのような実施形態では、コンジュゲートリンカーは、アルキル、アミノ、オキソ、アミドおよびエーテル基から選択される基を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、アルキルおよびアミド基から選択される基を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、アルキルおよびエーテル基から選択される基を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは少なくとも1つのリン部分を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは少なくとも1つのリン酸基を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは少なくとも1つの中性連結基を含む。

10

【0484】

ある特定の実施形態では、上記のコンジュゲートリンカーを含む、コンジュゲートリンカーは二官能性連結部分、例えば、コンジュゲート基を親化合物、例えば本明細書において提供されるオリゴヌクレオチドに取り付けるために有用であることが当該技術分野において公知のものである。一般に、二官能性連結部分は少なくとも2つの官能基を含む。官能基の1つは、親化合物上の特定の部位に結合するように選択され、かつ他方は、コンジュゲート基に結合するように選択される。二官能性連結部分において使用される官能基の例は、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を含むがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、二官能性連結部分は、アミノ、ヒドロキシル、カルボン酸、チオール、アルキル、アルケニル、およびアルキニルから選択される1つまたは複数の基を含む。

20

【0485】

コンジュゲートリンカーの例は、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)を含むがこれらに限定されない。他のコンジュゲートリンカーは、置換もしくは非置換C₁~C₁₀アルキル、置換もしくは非置換C₂~C₁₀アルケニルまたは置換もしくは非置換C₂~C₁₀アルキニル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リストは、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。

30

【0486】

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

40

【0487】

ある特定の実施形態では、そのようなリンカーヌクレオシドは修飾ヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、そのようなリンカーヌクレオシドは修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、リンカーヌクレオシドは非修飾である。ある特定の実施形態では、リンカーヌクレオシドは、プリン、置換プリン、ピリミジンまたは置換ピリミジンから選択される、任意選択で保護された複素環式塩基を含む。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、ウラシル、チミン、シトシン、4-N-ベンゾイルシトシン、5-メチルシトシン、4-N-ベンゾイル-5-メチルシトシン、アデニン、6-N-ベンゾイルアデニン、グアニンおよび2-N-イソブチリルグアニンから選択されるヌクレオシドである

50

。オリゴマー化合物が標的組織に達した後にリンカーヌクレオシドがオリゴマー化合物から切断されることが典型的には望ましい。よって、リンカーヌクレオシドは、典型的には、切断可能な結合を通じて互いにおよびオリゴマー化合物の残余に連結される。ある特定の実施形態では、そのような切断可能な結合はホスホジエステル結合である。

【0488】

本明細書において、リンカーヌクレオシドはオリゴヌクレオチドの部分であるとは考えられない。よって、オリゴマー化合物が、指定される数もしくは範囲の連結されたヌクレオシドからなるオリゴヌクレオチドおよび／または参照核酸に対して指定される相補性パーセントを含み、かつオリゴマー化合物がまた、リンカーヌクレオシドを含むコンジュゲートリンカーを含むコンジュゲート基を含む、実施形態では、それらのリンカーヌクレオシドは、オリゴヌクレオチドの長さにカウントされず、また参照核酸についてのオリゴヌクレオチドの相補性パーセントの決定において使用されない。

10

【0489】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基がSTMN2 AONから切断されることが望ましい。例えば、ある特定の状況では、特定のコンジュゲート部分を含むオリゴマー化合物は特定の細胞種によってより良好に取り込まれるが、オリゴマー化合物が一旦取り込まれると、コンジュゲート基が切断されて、コンジュゲートしていないまたは親オリゴヌクレオチドを放出することが望ましい。そのため、ある特定のコンジュゲートリンカーは1つまたは複数の切断可能な部分を含んでもよい。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は切断可能な結合である。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、少なくとも1つの切断可能な結合を含む原子の群である。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、1、2、3、4、または4つより多くの切断可能な結合を有する原子の群を含む。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、細胞または細胞内コンパートメント、例えばリソソームの内部において選択的に切断される。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、内因性酵素、例えばヌクレアーゼにより選択的に切断される。

20

【0490】

ある特定の実施形態では、切断可能な結合は、アミド、エステル、エーテル、ホスホジエステルの1つもしくは両方のエステル、ホスフェートエステル、カルバメート(carbamate)、またはジスルフィドの中から選択される。ある特定の実施形態では、切断可能な結合は、ホスホジエステルのエステルの1つまたは両方である。ある特定の実施形態では、切断可能な部分はホスフェートまたはホスホジエステルを含む。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、オリゴヌクレオチドおよびコンジュゲート部分またはコンジュゲート基の間のホスフェート結合である。

30

【0491】

ある特定の実施形態では、切断可能な部分は1つまたは複数のリンカーヌクレオシドを含むまたはからなる。ある特定のそのような実施形態では、1つまたは複数のリンカーヌクレオシドは、切断可能な結合を通じて互いにおよび／またはオリゴマー化合物の残余に連結される。ある特定の実施形態では、そのような切断可能な結合は非修飾ホスホジエステル結合である。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、ホスフェートヌクレオシド間結合によりオリゴヌクレオチドの3'または5'のいずれかの末端ヌクレオシドに取り付けられ、かつホスフェートまたはホスホロチオエート結合によりコンジュゲートリンカーまたはコンジュゲート部分の残余に共有結合的に取り付けられる2'-デオキシヌクレオシドである。ある特定のそのような実施形態では、切断可能な部分は2'-デオキシアデノシンである。

40

【0492】

末端基

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は1つまたは複数の末端基を含む。ある特定のそのような実施形態では、オリゴマー化合物は、安定化された5'-ホスフェートを含有。安定化された5'-ホスフェートは5'-ホスホネートを含むがこれに限定されず、5'-ホスホネートは5'-ビニルホスホネートを含むがこれに限定されない。ある特定の

50

実施形態では、末端基は、1つまたは複数の脱塩基ヌクレオシドおよび／または逆位ヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、末端基は1つまたは複数の2'結合型ヌクレオシドを含む。ある特定のそのような実施形態では、2'結合型ヌクレオシドは脱塩基ヌクレオシドである。様々な実施形態では、末端基は、1つまたは複数のスパーサーを含む。

【0493】

診断方法

本開示はまた、神経学的疾患を有する患者を診断する方法であって、患者の1つまたは複数の生物学的試料中のSTMN2発現シグナルのレベルを検出することに依拠する方法を提供する。本明細書において使用される場合、「STMN2発現シグナル」という用語は、STMN2遺伝子の発現、または遺伝子もしくは遺伝子産物の活性の任意の兆候を指すことができる。STMN2遺伝子産物は、RNA（例えば、mRNA）、ペプチド、およびタンパク質を含む。評価され得るSTMN2遺伝子発現の指数は、STMN2遺伝子もしくはクロマチンの状態、遺伝子発現を調節する細胞成分とのSTMN2遺伝子の相互作用、配列番号1339もしくは配列番号1341に対して、少なくとも90%（例えば、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくは100%）の同一性を共有する配列を含むSTMN2遺伝子産物の発現レベル（例えば、STMN2転写物（例えば、隠れエクソンを含むSTMN2プレmRNA）の発現レベル）、またはSTMN2 RNAもしくはタンパク質の、転写、翻訳、もしくは翻訳後プロセッシング機構との相互作用を含むがこれらに限定されない。

【0494】

STMN2発現シグナルの検出は、*in vivo*、*in vitro*、または*ex vivo*の方法を通じて達成されてもよい。好ましい実施形態では、本開示の方法は*in vitro*で実行されてもよい。検出方法は、患者の血液、血清、糞便物、組織、脳脊髄液、脊髄液、細胞外小胞（例えば、CSFエクソソーム）、または細胞における検出を含んでもよい。検出は、組織全体、組織外植片、細胞培養物、解離細胞、細胞抽出物、細胞外小胞（例えば、CSFエクソソーム）、または体液での配列番号1339または配列番号1341に対して、少なくとも90%（例えば、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%）の同一性を共有する配列を含むSTMN2転写物（例えば、隠れエクソンを含むSTMN2プレmRNA）の発現シグナルを測定することによって達成されてもよく、体液は、血液、脊髄液、脳脊髄液、尿、リンパ液、または血清を含む。検出の方法は、STMN2遺伝子産物の発現のレベルを測定するアッセイ、例えばウエスタンブロッティング、FACS、ELISA、他の定量的結合アッセイ、細胞もしくは組織成長アッセイ、ノーザンブロット、定量的もしくは半定量的ポリメラーゼ連鎖反応、医療イメージング方法（例えば、MRI）、または免疫染色方法（例えば、免疫組織化学もしくは免疫細胞化学）を含む。

【0495】

修飾の一般論

本明細書に記載のある特定の化合物、組成物および方法を、ある特定の実施形態にしたがって特有性と共に記載してきたが、以下の実施例は、本明細書に記載の化合物の実例を示すためのものに過ぎず、それを限定することは意図されない。本出願において記載される参考文献およびGenBank受託番号などのそれぞれは、参照により全体が本明細書に組み込まれる。

【0496】

本出願に付随する配列表は、現実における要求に応じて「RNA」または「DNA」のいずれかとして各配列を同定するが、それらの配列は、化学修飾の任意の組合せを用いて修飾されてもよい。修飾オリゴヌクレオチドを記載するための「RNA」または「DNA」のような指定は、ある特定の事例では、任意であることを当業者は容易に理解する。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（DNAの1つの2'-Hの代わりに2'-OH）を有するDNAまたは修飾塩

10

20

30

40

50

基（RNAのウラシルの代わりにチミン（メチル化ウラシル））を有するRNAとして記載され得る。よって、配列表におけるものを含むがそれらに限定されない、本明細書において提供される核酸配列は、天然または修飾RNAおよび／またはDNAの任意の組合せを含有する核酸を包含することが意図され、これは、修飾核酸塩基を有するそのような核酸を含むがそれらに限定されない。非限定的にさらなる例として、核酸塩基配列「ATCGATCG」を有するオリゴマー化合物は、修飾されたものまたは非修飾のものいずれであれ、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、これは、RNA塩基を含むそのような化合物、例えば配列「AUCGAUCG」を有するもの、および一部のDNA塩基および一部のRNA塩基、例えば「AUCGATCG」を有するもの、ならびに他の修飾核酸塩基を有するオリゴマー化合物、例えば「AT^mCGAUCG」（^mCは5位にメチル基を含むシトシン塩基を指し示す）を含むがこれらに限定されない。

10

【0497】

本明細書に記載のある特定の化合物（例えば、修飾オリゴヌクレオチド）は1つまたは複数の不斉中心を有し、そのため、エナンチオマー、ジアステレオマー、および他の立体異性体コンフィギュレーションを生じさせ、これらは、（R）もしくは（S）として、糖アノマーなどについてのαもしくはβとして、アミノ酸などについての（D）もしくは（L）としてなど、絶対立体化学の観点で定義されてもよい。ある特定の立体異性体コンフィギュレーションを有するとして図示または記載される本明細書において提供される化合物は、指し示される化合物のみを含む。未定義の立体化学と共に図示または記載される本明細書において提供される化合物は、他に指定されなければ、それらのステレオランダム（stereorandom）および光学的に純粋な形態を含む、すべてのそのような可能な異性体を含む。同様に、他に指し示されなければ、本明細書における化合物のすべての互変異性体形態もまた含まれる。他に指し示されなければ、本明細書に記載の化合物は、対応する塩形態を含むことが意図される。

20

【0498】

本明細書に記載の化合物は、1つまたは複数の原子が、指し示される要素の非放射活性同位体または放射活性同位体で置き換えられたバリエーションを含む。例えば、水素原子を含む本明細書における化合物は、¹H水素原子のそれぞれについてのすべての可能な重水素置換を包含する。本明細書における化合物により包含される同位体置換は、¹Hの代わりに²Hまたは³H、¹²Cの代わりに¹³Cまたは¹⁴C、¹⁴Nの代わりに¹⁵N、¹⁶Oの代わりに¹⁷Oまたは¹⁸O、および³²Sの代わりに³³S、³⁴S、³⁵S、または³⁶Sを含むがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、非放射性同位体置換は、治療または研究ツールとしての使用のために有益な新たな特性をオリゴマー化合物に付与してもよい。

30

【実施例】

【0499】

本開示を以下の実施例によりさらに説明する。実施例は実例的な目的のためにのみ提供され、いかなる意味でも本開示の範囲または内容を限定するものとして解釈されるべきではない。

40

【0500】

[実施例1]

STMN2オリゴヌクレオチドの設計および選択

隠れエクソンを含むSTMN2転写物を標的とするSTMN2 AONオリゴヌクレオチドが設計され、隠れエクソンを含むSTMN2転写物の量を低減する能力を有するSTMN2 AONを同定するために試験される。このようなSTMN2 AONは、配列番号1～446または配列番号893～1338のいずれかによって表されるSTMN2親オリゴヌクレオチドを含む。STMN2親オリゴヌクレオチドは、長さが25個のヌクレオシドである。STMN2親オリゴヌクレオチドのヌクレオシドのそれぞれは、2' MOE糖部分を有する改変型ヌクレオシドであり、それぞれの「C」は、5-MeCで置換さ

50

れている。加えて、STMN2オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間のヌクレオシド間結合のそれぞれは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。

【0501】

図1は、STMN2転写物の部分および隠れエクソンを含むSTMN2転写物のある特定の部分を標的とするよう設計されているSTMN2親オリゴヌクレオチドを描写する。特に、STMN2転写物の領域は、ブランチポイント（例えば、ブランチポイント1、2、および3）、3'スプライスアクセプター領域、ESE結合領域、TDP43結合部位、ならびにポリA領域を含む。STMN2オリゴヌクレオチドは、STMN2オリゴヌクレオチドが対応する、STMN2転写物の位置にしたがって同定される。例えば、図1は、ブランチポイント1を含む、隠れエクソンを含むSTMN2転写物の位置36～60を標的化するSTMN2オリゴヌクレオチドを描写する。同様に、異なるSTMN2オリゴヌクレオチドは、ブランチポイント3を含む、隠れエクソンを含むSTMN2転写物の位置144～178を標的化する。他のSTMN2オリゴヌクレオチドは、上記に開示される任意の配列を使用して設計され得る。

10

【0502】

一般に、STMN2アンチセンスオリゴヌクレオチドの長さは、長さが25個のヌクレオチド塩基である。しかしながら、様々な長さ（例えば、23mer、21mer、または19mer）を有するSTMN2アンチセンスオリゴヌクレオチドのバリエーションもまた設計した。配列番号1342～1366または配列番号1392～1521の配列を含むこれらのバリエーションであるSTMN2アンチセンスオリゴヌクレオチドの実施例を設計した。

20

【0503】

[実施例2]

STMN2アンチセンスオリゴヌクレオチドを評価する方法

STMN2アンチセンスオリゴヌクレオチドをSY5Y細胞およびヒト運動ニューロン(hMN)において評価した。細胞を6ウェルまたは96ウェルプレートにプレATINGし、80%の密集度まで培養した。TDP43に対するアンチセンスオリゴヌクレオチド(AON)を、RNAiMax(Thermo Fisher Scientific、Waltham、MA、USA)を用いてトランスフェクトして隠れエクソンを発現させ、それにより全長STMN2(STMN2-FL)生成物の転写を予防した。単独でのRNAiMaxを用いてビヒクルを処理した。陽性対照は、単独でのTDP43 siRNA(「siRNA TDP43」)および／または単独でのTDP43 AON(「AON TDP43」)もしくは「TDP43 AON」を用いて処理された細胞を含んだ。siRNA TDP43は、Horizon/DharmaconからON-TARGETplus Human TARDBP(23435) siRNA-SMARTpool(#L-012394-00-0005)として購入した。TARDBP(23435) siRNAは、4つの別々の配列：

30

1) 標的配列1: GCUCAAGCAUGGAUUCUAA (配列番号1665)

2) 標的配列2: CAAUCAAGGUAGUAAUAUG (配列番号1666)

3) 標的配列3: GGGCUUCGCUACAGGAUUC (配列番号1667)

40

4) 標的配列4: CAGGGUGGAUUUGGUAAUA (配列番号1668)

を標的化する4つの個々のsiRNAを含む。

【0504】

TDP43 AONはギャップマーオリゴヌクレオチドであり、以下の配列および化学を有する：

5' A * A * G * G * C * T * C * A * T * A * T * T * G * T * A * C * T * T * T 3' (配列番号1669)

(* = ホスホロチオエート、下線 = DNA、その他 = 2' MOE RNA；各「C」は5-MeC)

【0505】

50

STMN2-FLを回復させるSTMN2 AONの能力を評価するために、STMN2に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドをRNAiMax中でTDP43 AONと共にインキュベートした。96時間後に、転写物レベル（例えば、STMN2全長転写物、隠れエクソンを有するSTMN2転写物、またはTDP43転写物）を、Taqmanを使用してRT-qPCRにより検出した。特に、ThermoFisher TaqMan Gene Expression Assay Hs03929097_g1を使用してGAPDHを検出するためにRT-qPCRを行った。以下のプライマー配列：1）フォワードプライマー：5'-CTCAGTGCCTTATTCAGTCTTCTC-3'（配列番号1670）、2）リバースプライマー：5'-TCTTCTGCCGAGTCCCATTT-3'（配列番号1671）および3）プローブ：5'-/56-FAM/T CAGCGTCTGCACATCCCTACAAT/3BHQ_1/-3'（配列番号1672）を使用して隠れエクソンを有するSTMN2転写物を検出するためにRT-qPCRを行った。以下のプライマー配列：1）フォワードプライマー：5'-CCACGA ACTTTAGCTTCTCCA-3'（配列番号1673）、2）リバースプライマー：5'-GCCAATTGTTTTCAGCACCTG-3'（配列番号1674）、および3）プローブ：5'-/56-FAM/ACTTTCTTCTTTTCCTCTG CAG CCTCC/3BHQ_1/-3'（配列番号1675）を使用して全長STMN2転写物を検出するためにRT-qPCRを行った。

【0506】

Applied Biosystems（登録商標）7500 Real-time PCR system上でRT-qPCRを行った。1サイクルの逆転写を50℃の温度で5分間行った。1サイクルのRT不活性化／初期変性を95℃の温度で20秒間行った。45サイクルの増幅を95℃の温度で1秒間、続いて60℃で20秒間行った。

【0507】

STMN2-FLまたはSTMN2隠れシグナル（Ct）をGAPDH（delta Ct）に対して正規化した。量的変化（例えば、STMN-FLの増加%）を可視化するために、正規化されたSTMN2-FLシグナルをビヒクル（単独でのRNAiMaxを用いた処理、delta delta Ct）に対してさらに正規化した。転写物レベルの相対量を式 $RQ = 2^{-\text{delta delta Ct}}$ を使用して算出し、それを使用して正常な健常レベル（1.0）に対する処理条件の比較を記載する。

【0508】

隠れエクソンを有するSTMN2の発現の減少パーセントを、

【0509】

【数1】

$$100 - \left(\frac{\text{STMN2 AON に応答した隠れエクソンを有する STMN2 の平均相対量}}{\text{TDP43 AON に応答した隠れエクソンを有する STMN2 の平均相対量}} * 100 \right)$$

の式を使用して算出した。

全長STMN2 mRNA転写物の増加パーセントを、

【0510】

【数2】

$$\left(\frac{\text{STMN2 AON に応答した FL STMN2 転写物の平均相対量}}{\text{TDP43 AON に応答した FL STMN2 転写物の平均相対量}} * 100 \right) - 100$$

の式を使用して算出した。

【0511】

STMN2アンチセンスオリゴヌクレオチドをまた、隠れエクソンを低減させ、STM 50

N 2 全長転写物を増加させる効力についてヒト運動ニューロンにおいて評価した。i C e l l ヒト運動ニューロン (C e l l u l a r D y n a m i c s I n t e r n a t i o n a l) を、生産者の使用説明書にしたがって R T - q P C R R N A 定量化のために 9 6 ウェルプレート中に 1.5×10^3 細胞/ウェルまたはウエスタンブロットタンパク質定量化のために 6 ウェルプレート中に 3×10^5 細胞/ウェルでプレーティングした。エンドポーター (G e n e T o o l s , L L C .) を使用してニューロンに T D P 4 3 A O N および/もしくは S T M N 2 A O N をトランスフェクトし、または単独でのエンドポーターを用いてニューロンを処理した。処理条件を、生物学的な 3 連 (q R T - P C R) または 2 連 (ウエスタンブロット) のウェルにおいて試験した。上記の同じ T D P 4 3 A O N をここでは使用してヒト運動ニューロンを評価する。T D P 4 3 A O N はギャップマーオリゴヌクレオチドであり、以下の配列および化学を有する:

5' A * A * G * G * C * T * T * C * A * T * A * T * T * G * T * A * C * T * T * T 3' (配列番号 1 6 6 9)

(* = ホスホロチオエート、下線 = D N A、その他 = 2' M O E R N A)
[0 5 1 2]

7 2 時間後に、アンチセンスオリゴヌクレオチドおよびエンドポーターを洗浄除去し、新鮮な培地で置き換えた。さらに 7 2 時間後に、R N A を R T - q P C R のために 9 6 ウェルプレートから、またはタンパク質をウエスタンブロットのために 6 ウェルプレートから収集した。R N A を単離し、c D N A を生成させ、S T M N 2 隠れエクソン、S T M N 2 全長転写物および参照 G A P D H 定量化のために t a q m a n プローブを用いてマルチプレックス R T - q P C R アッセイを行った。S Y 5 Y 細胞に関して上記したものと同一である、G A P D H、隠れエクソンを有する S T M N 2 転写物、および全長 S T M N 2 を検出するためのプライマーを、ヒト運動ニューロンについての R T - q P C R を実行するためにここで適用した。タンパク質定量化のために、タンパク質収集物の可溶性部分を変性させ、S D S - P A G E により分離させ、ポリビニリデンジフルオリド膜に転写し、G A P D H (P r o t e i n t e c h、6 0 0 0 4 - 1 - 1 g)、T D P - 4 3 (P r o t e i n t e c h、1 0 7 8 2 - 2 - A P)、および S t a t h m i n - 2 (T h e r m o F i s h e r、P A 5 - 2 3 0 4 9) に対する抗体を用いてプロービングした。

[0 5 1 3]

[実施例 3]

S T M N 2 親オリゴヌクレオチドおよびオリゴヌクレオチドバリエーションは、全長 S T M N 2 を回復させ、隠れエクソンを有する S T M N 2 転写物を低減する

S T M N 2 親オリゴヌクレオチドおよびオリゴヌクレオチドバリエーションを、T D P 4 3 サイレンス細胞における全長 S T M N 2 m R N A (すなわち、全長 S T M N 2 を翻訳する m R N A) レベルを増加させるか、または回復させるそれらの能力について試験する。ある場合には、S T M N 2 オリゴヌクレオチドを、隠れエクソンを有する S T M N 2 転写物を低減するそれらの能力について試験する。以下でさらに記載する通り、定量化パーセンテージは、S T M N 2 - F L の増加/回復および/または隠れエクソンを有する S T M N 2 転写物のパーセンテージ低減を、対照群 (例えば、T D P 4 3 A O N 5 0 0 n M で処理した細胞) における S T M N - F L および/または隠れエクソンを有する S T M N 2 転写物のレベルと関連して記載する。

[0 5 1 4]

図 2 を参照すると、5 0 0 n M の T D P 4 3 A O N を用いて処理された場合に T D P 4 3 転写物は約 5 2 % 減少し、S T M N 2 - F L は約 5 7 % 減少した。2 5 % 増加させ、S T M N - F L レベルを 5 5 % (6 7 % までレスキュー) 増加させた。配列番号 1 7 7 を有する S T M N 2 親オリゴヌクレオチド 5 0 n M および 5 0 0 n M での処理は、それぞれ、S T M N - F L レベルを 5 8 % (6 6 % までレスキュー) および 5 3 % (6 8 % までレスキュー) 増加させた。配列番号 2 0 3 を有する S T M N 2 親オリゴヌクレオチド 5 0 0 n M での処理は、T D P 4 3 レベルを 1 5 % および S T M N - F L レベルを 7 2 % (7 4 % までレスキュー) 増加させた。配列番号 3 9 5 を有する S T M N 2 親オリゴヌクレ

オチド 500 nMおよび5000 nMでの処理は、それぞれ、STMN-FLレベルを49% (64%までレスキュー) および37% (59%までレスキュー) 増加させた。

【0515】

図3を参照すると、500 nMのTDP43 AONを用いて処理された場合に、隠れエクソンを有するSTMN2転写物の量は20倍より大きく増加した。配列番号173を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを68%低減した。配列番号181を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを65%低減した。配列番号197を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを39%低減した。配列番号215を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを31%低減した。配列番号385を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを53%低減した。配列番号400を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを74%低減した。

10

【0516】

図4を参照すると、500 nMのTDP43 AONを用いて処理された場合にSTMN2-FLは約59%減少した。配列番号173を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを66% (68%までレスキュー) 増加させた。配列番号197を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを46% (60%までレスキュー) 増加させた。

20

【0517】

図5Aを参照すると、500 nMのTDP43 AONを用いて処理された場合に、隠れエクソンを有するSTMN2転写物の量は36倍より大きく増加した。配列番号185を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを58%低減した。配列番号237を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを87%低減した。配列番号380を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを70%低減した。配列番号390を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを58%低減した。

30

【0518】

図5Bを参照すると、500 nMのTDP43 AONを用いて処理された場合にSTMN2-FLは66%減少した。配列番号185を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを109% (71%までレスキュー) 増加させた。配列番号237を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを247% (118%までレスキュー) 増加させた。

【0519】

図6Aを参照すると、500 nMのTDP43 AON (2つの異なる合成) を用いて処理された場合に、隠れエクソンを有するSTMN2転写物の量は20倍より大きく増加した。配列番号144を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを83~88%低減した。配列番号237を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを92~93%低減した。

40

【0520】

図6Bを参照すると、500 nMのTDP43 AONを用いて処理された場合にSTMN2-FLは約80%減少した。配列番号144を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを276%~329% (79%~90%までレスキュー) 増加させた。配列番号237を有するSTMN2親オリゴヌクレオ

50

チド 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを390%~438% (103%~113%までレスキュー) 増加させた。

【0521】

図7Aを参照すると、500 nMのTDP43 AONを用いて処理された場合に、隠れエクソンを有するSTMN2転写物の量は23倍より大きく増加した。配列番号173を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを83%低減した。配列番号177を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを83%低減した。配列番号181を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを72%低減した。

10

【0522】

図7Bを参照すると、500 nMのTDP43 AONを用いて処理された場合にSTMN2-FLは約58%減少した。配列番号173を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを119% (92%までレスキュー) 増加させた。配列番号181を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを88% (79%までレスキュー) 増加させた。配列番号185を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを74% (73%までレスキュー) 増加させた。

【0523】

図8Aを参照すると、500 nMのTDP43 AONを用いて処理された場合に、隠れエクソンを有するSTMN2転写物の量は20倍より大きく増加した。配列番号197を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを65%低減した。配列番号237を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを94%低減した。

20

【0524】

図8Bを参照すると、500 nMのTDP43 AONを用いて処理された場合にSTMN2-FLは59%減少した。配列番号197を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを85% (76%までレスキュー) 増加させた。配列番号237を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを127% (93%までレスキュー) 増加させた。配列番号380を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを71% (70%までレスキュー) 増加させた。

30

【0525】

図9Aを参照すると、500 nMのTDP43 AONを用いて処理された場合に、隠れエクソンを有するSTMN2転写物の量は50倍より大きく増加した。配列番号144を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを92%低減した。配列番号173を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを82%低減した。配列番号237を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを96%低減した。

40

【0526】

図9Bを参照すると、500 nMのTDP43 AONを用いて処理された場合にSTMN2-FLは67%減少した。配列番号144を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを135% (87%までレスキュー) 増加させた。配列番号173を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを132% (86%までレスキュー) 増加させた。配列番号237を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを143% (90%までレスキュー) 増加させた。

【0527】

50

図10Aを参照すると、500nMのTDP43 AONを用いて処理された場合に、隠れエクソンを有するSTMN2転写物の量は65倍より大きく増加した。配列番号181を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 200nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを50%低減した。配列番号181を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを73%低減した。図10Bを参照すると、500nMのTDP43 AONを用いて処理された場合にSTMN2-FLは67%減少した。配列番号181を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 50nMでの処理は、STMN-FLレベルを115% (71%までレスキュー) 増加させた。配列番号181を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 200nMでの処理は、STMN-FLレベルを97% (65%までレスキュー) 増加させた。配列番号181を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500nMでの処理は、STMN-FLレベルを94% (64%までレスキュー) 増加させた。

10

【0528】

図11Aを参照すると、500nMのTDP43 AONを用いて処理された場合に、隠れエクソンを有するSTMN2転写物の量は26倍より大きく増加した。配列番号185を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを47%低減した。図11Bを参照すると、500nMのTDP43 AONを用いて処理された場合にSTMN2-FLは74%減少した。配列番号185を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 50nMでの処理は、STMN-FLレベルを73% (45%までレスキュー) 増加させた。配列番号185を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 200nMでの処理は、STMN-FLレベルを246% (90%までレスキュー) 増加させた。配列番号185を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500nMでの処理は、STMN-FLレベルを165% (69%までレスキュー) 増加させた。

20

【0529】

図12Aを参照すると、500nMのTDP43 AONを用いて処理された場合に、隠れエクソンを有するSTMN2転写物の量は41倍より大きく増加した。配列番号197を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを51%低減した。図12Bを参照すると、500nMのTDP43 AONを用いて処理された場合にSTMN2-FLは65%減少した。配列番号197を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 20nMでの処理は、STMN-FLレベルを86% (65%までレスキュー) 増加させた。配列番号197を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 50nMでの処理は、STMN-FLレベルを131% (81%までレスキュー) 増加させた。配列番号197を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 200nMでの処理は、STMN-FLレベルを154% (89%までレスキュー) 増加させた。配列番号197を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500nMでの処理は、STMN-FLレベルを169% (94%までレスキュー) 増加させた。

30

【0530】

図13Aを参照すると、500nMのTDP43 AONを用いて処理された場合に、隠れエクソンを有するSTMN2転写物の量は41倍より大きく増加した。配列番号144を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを93%低減した。図13Bを参照すると、500nMのTDP43 AONを用いて処理された場合にSTMN2-FLは84%減少した。配列番号144を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 50nMでの処理は、STMN-FLレベルを75% (28%までレスキュー) 増加させた。配列番号144を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 200nMでの処理は、STMN-FLレベルを260% (57%までレスキュー) 増加させた。配列番号144を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500nMでの処理は、STMN-FLレベルを444% (87%までレスキュー) 増加させた。

40

【0531】

50

図14Aを参照すると、隠れエクソンを有するSTMN2転写物の量は、TDP43 AON 500で処理したとき、24倍より大きく増加した。配列番号173を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 200nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを59%低減した。配列番号173を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを70%低減した。図14Bを参照すると、500nMのTDP43 AONを用いて処理された場合にSTMN2-FLは62%減少した。配列番号173を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 200nMでの処理は、STMN-FLレベルを100%（76%までレスキュー）増加させた。配列番号173を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500nMでの処理は、STMN-FLレベルを158%（98%までレスキュー）増加させた。

10

【0532】

図15Aを参照すると、500nMのTDP43 AONを用いて処理された場合に、隠れエクソンを有するSTMN2転写物の量は70倍より大きく増加した。配列番号237を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 200nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを78%低減した。配列番号237を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを92%低減した。図15Bを参照すると、500nMのTDP43 AONを用いて処理された場合にSTMN2-FLは77%減少した。配列番号237を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 50nMでの処理は、STMN-FLレベルを87%（43%までレスキュー）増加させた。配列番号237を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 200nMでの処理は、STMN-FLレベルを135%（54%までレスキュー）増加させた。配列番号237を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500nMでの処理は、STMN-FLレベルを209%（71%までレスキュー）増加させた。

20

【0533】

図16を参照すると、STMN2タンパク質レベルは、TDP43 AON 500nMで処理したとき、44%減少した。配列番号173を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500nMでの処理は、STMNタンパク質レベルを52%増加させた。配列番号237を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500nMでの処理は、STMNタンパク質レベルを34%増加させた。

30

【0534】

図17Aを参照すると、500nMのTDP43 AONを用いて処理された場合に、隠れエクソンを有するSTMN2転写物の量は30倍より大きく増加した。配列番号237を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを96%低減した。配列番号1348を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション 500nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを97%低減した。配列番号1349を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション 500nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを97%低減した。配列番号1360を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション 500nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを71%低減した。

40

【0535】

図17Bを参照すると、500nMのTDP43 AONを用いて処理された場合にSTMN2-FLは76%減少した。配列番号237を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500nMでの処理は、STMN-FLレベルを238%（81%までレスキュー）増加させた。配列番号1348を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション 500nMでの処理は、STMN-FLレベルを63%（39%までレスキュー）増加させた。配列番号1359を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション 500nMでの処理は、STMN-FLレベルを96%（47%までレスキュー）増加させた。配列番号1360を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション 500nMでの処理は、

50

STMN-FL レベルを 125% (54% までレスキュー) 増加させた。

【0536】

図 18A を参照すると、500 nM の TDP43 AON を用いて処理された場合に、隠れエクソンを有する STMN2 転写物の量は 19 倍より大きく増加した。配列番号 185 を有する STMN2 親オリゴヌクレオチド 500 nM での処理は、隠れエクソンを有する STMN2 転写物のレベルを 83% 低減した。配列番号 1347 を有する STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nM での処理は、隠れエクソンを有する STMN2 転写物のレベルを 85% 低減した。配列番号 1356 を有する STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nM での処理は、隠れエクソンを有する STMN2 転写物のレベルを 56% 低減した。配列番号 1357 を有する STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nM での処理は、隠れエクソンを有する STMN2 転写物のレベルを 78% 低減した。配列番号 1364 を有する STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nM での処理は、隠れエクソンを有する STMN2 転写物のレベルを 78% 低減した。

10

【0537】

図 18B を参照すると、500 nM の TDP43 AON を用いて処理された場合に STMN2-FL は 82% 減少した。配列番号 185 を有する STMN2 親オリゴヌクレオチド 500 nM での処理は、STMN-FL レベルを 161% (47% までレスキュー) 増加させた。配列番号 1347 を有する STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nM での処理は、STMN-FL レベルを 144% (44% までレスキュー) 増加させた。配列番号 1356 を有する STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nM での処理は、STMN-FL レベルを 128% (41% までレスキュー) 増加させた。配列番号 1357 を有する STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nM での処理は、STMN-FL レベルを 144% (44% までレスキュー) 増加させた。配列番号 1364 を有する STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nM での処理は、STMN-FL レベルを 183% (51% までレスキュー) 増加させた。

20

【0538】

図 19A を参照すると、500 nM の TDP43 AON を用いて処理された場合に、隠れエクソンを有する STMN2 転写物の量は 23 倍より大きく増加した。配列番号 173 を有する STMN2 親オリゴヌクレオチド 500 nM での処理は、隠れエクソンを有する STMN2 転写物のレベルを 81% 低減した。配列番号 1345 を有する STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nM での処理は、隠れエクソンを有する STMN2 転写物のレベルを 86% 低減した。配列番号 1354 を有する STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nM での処理は、隠れエクソンを有する STMN2 転写物のレベルを 81% 低減した。配列番号 1355 を有する STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nM での処理は、隠れエクソンを有する STMN2 転写物のレベルを 47% 低減した。配列番号 1362 を有する STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nM での処理は、隠れエクソンを有する STMN2 転写物のレベルを 75% 低減した。

30

【0539】

図 19B を参照すると、500 nM の TDP43 AON を用いて処理された場合に STMN2-FL は 83% 減少した。配列番号 173 を有する STMN2 親オリゴヌクレオチド 500 nM での処理は、STMN-FL レベルを 265% (までレスキュー 62%) 増加させた。配列番号 1345 を有する STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nM での処理は、STMN-FL レベルを 206% (52% までレスキュー) 増加させた。配列番号 1354 を有する STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nM での処理は、STMN-FL レベルを 212% (53% までレスキュー) 増加させた。配列番号 1355 を有する STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nM での処理は、STMN-FL レベルを 88% (32% までレスキュー) 増加させた。配列番号 1362 を有する STMN2 オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nM での処理は、STMN-FL レベルを 188% (49% までレスキュー) 増加させた。

40

【0540】

50

図20Aを参照すると、500 nMのTDP43 AONを用いて処理された場合に、隠れエクソンを有するSTMN2転写物の量は35倍より大きく増加した。配列番号237を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを91%低減した。配列番号1348を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを94%低減した。配列番号1349を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを96%低減した。配列番号1365を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを82%低減した。配列番号1366を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを38%低減した。配列番号1358を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを33%低減した。

10

【0541】

図20Bを参照すると、500 nMのTDP43 AONを用いて処理された場合にSTMN2-FLは80%減少した。配列番号237を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを325%（85%までレスキュー）増加させた。配列番号1348を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを350%（90%までレスキュー）増加させた。配列番号1366を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを105%（41%までレスキュー）増加させた。配列番号1358を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを20%（24%までレスキュー）増加させた。

20

【0542】

図21Aを参照すると、500 nMのTDP43 AONを用いて処理された場合に、隠れエクソンを有するSTMN2転写物の量は11倍より大きく増加した。配列番号173を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを72%低減した。配列番号1346を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを85%低減した。配列番号1353を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを55%低減した。配列番号1662（G*A*G*TCCTGCAATATGAATATA*AT*T*T（式中、*は、ホスホジエステル結合を示す））を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを49%低減した。配列番号1663（GAGTCCTG*C*A*A*T*A*ATGAATATAATTT（式中、*は、ホスホジエステル結合を示す））を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを57%低減した。

30

【0543】

図21Bを参照すると、500 nMのTDP43 AONを用いて処理された場合にSTMN2-FLは73%減少した。配列番号173を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを85%（50%までレスキュー）増加させた。配列番号1353を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを85%（50%までレスキュー）増加させた。配列番号1662を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを74%（47%までレスキュー）増加させた。配列番号1663を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを89%（51%までレスキュー）増加させた。

40

【0544】

図22Aを参照すると、500 nMのTDP43 AONを用いて処理された場合に、

50

隠れエクソンを有するSTMN2転写物の量は13倍より大きく増加した。配列番号144を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド500nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを91%低減した。配列番号1344を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション500nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを80%低減した。配列番号1342を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション500nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを85%低減した。

【0545】

図22Bを参照すると、500nMのTDP43 AONを用いて処理された場合にSTMN2-FLは65%減少した。配列番号144を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド500nMでの処理は、STMN-FLレベルを94%（68%までレスキュー）増加させた。配列番号1343を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド500nMでの処理は、STMN-FLレベルを11%（39%までレスキュー）増加させた。配列番号1351を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド500nMでの処理は、STMN-FLレベルを9%（38%までレスキュー）増加させた。配列番号1344を有するSTMN2オリゴヌクレオチドバリエーション500nMでの処理は、STMN-FLレベルを114%（75%までレスキュー）増加させた。配列番号1350を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド500nMでの処理は、STMN-FLレベルを3%（36%までレスキュー）増加させた。配列番号1361を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド500nMでの処理は、STMN-FLレベルを9%（38%までレスキュー）増加させた。

【0546】

〔実施例4〕

スタスミン2 隠れスプライシングモジュレーターによって標的とすることができる指標としてのニューロパシー

実験で、iCellヒト運動ニューロン（Cellular Dynamics International）を、製造元の使用説明書にわたり、96ウェルプレート中19,000細胞／ウェルで播種した。ニューロンを、播種の7日後にトリプリケートのウェルで、配列番号237およびエンドポーター（GeneTools, LLC.）で処理するか、またはエンドポーター単独で処理した。72時間後、配列番号237 STMN2親オリゴヌクレオチドおよびエンドポーターを洗浄し、MG132を加えた。18時間後、RNAを単離し、cDNAを生成し、STMN2 隠れエクソンおよび参照GAPDH定量についてマルチプレックス QPCRアッセイを行った。

【0547】

図23を参照すると、それは、プロテアソーム阻害の増加を考慮したとしても、配列番号237のSTMN2親オリゴヌクレオチドを使用して隠れエクソン誘発の逆転を示す棒グラフを説明する。対照として、単独でのエンドポーター（無AON）を用いて処理され、その後にMG132（すべての濃度のMG132にわたる）を用いて処理された細胞は、隠れエクソンの高いレベルを示した。これは、ヒト運動ニューロンにおいてプロテアソーム阻害により誘発されるTDP-43病理の指標となる。TDP-43の誤った局在化は、STMN2 誤ったスプライシングおよび増加する隠れエクソン発現を導く。配列番号237の親オリゴヌクレオチドの付加は、強力（IC50<5nM）に隠れエクソン誘発を逆転する。図23に示す通り、増加する濃度の配列番号237（5nM～500nMの範囲にある）は、隠れエクソン相対量を有意に低減する。

【0548】

全体性では、このデータは、配列番号237の親オリゴヌクレオチドが、隠れエクソン発現のタンパク質毒性ストレス誘発に対して保護することを確認する。これは、ニューロンが、神経変性障害に存在するタンパク質毒性ストレスから保護されるべき設定において適用可能である。

【0549】

10

20

30

40

50

【実施例 5】

スタスミン 2 隠れスプライシングモジュレーターを使用した全長 STMN 2 mRNA および STMN 2 タンパク質の用量応答回復

ヒトニューロblastoma SY5Y 細胞において既に記載した通り、実験を行った。細胞を、6 ウェルまたは 96 ウェルのプレートにおいて播種し、80% の培養密度まで培養した。細胞における TDP-43 発現を、AON を使用して TDP 43 にロックダウンして、隠れエクソンを発現させ、これにより、全長 STMN 2 (STMN 2-FL) 産物の転写を妨げた。細胞を、様々な用量 (5 nM、50 nM、100 nM、200 nM、および 500 nM) の STMN 2 オリゴヌクレオチドバリエーション (具体的には、配列番号 1348) とさらに同時導入した。RNA およびタンパク質を QPCR およびウエスタンブロットアッセイのために単離した。

10

【0550】

図 24 は、全長 STMN 2 転写物の増加する濃度の配列番号 1348 を有する STMN 2 オリゴヌクレオチドバリエーションでの回復の増加を説明する用量応答曲線を示す。一般に、増加する濃度のオリゴヌクレオチドは、全長 STMN 2 mRNA を増加させ、隠れエクソンレベルを減少した。具体的には、STMN 2 オリゴヌクレオチドバリエーション 5 nM での処置は、全長 STMN 2 転写物の 40% の回復をもたらした。STMN 2 オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nM での処置は、全長 STMN 2 転写物のほぼ 100% の回復をもたらした。加えて、STMN 2 オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nM での処置は、隠れエクソンの有意な低減 (0% に近い) をもたらした。

20

【0551】

図 25A は、より高い濃度の配列番号 1348 を有する STMN 2 オリゴヌクレオチドバリエーションに反応した、全長 STMN 2 タンパク質の定性的増加を示すタンパク質ブロットアッセイを示す。図 25B は、異なる濃度の STMN 2 オリゴヌクレオチドバリエーションに反応した、GAPDH に対して正規化した全長 STMN 2 タンパク質の定量的レベルを示す。一般に、図 25A と 25B の両方は、増加する濃度の STMN 2 オリゴヌクレオチドバリエーションが、増加する濃度の全長 STMN 2 タンパク質をもたらしたことを示す。具体的には、図 25B において示す通り、より低い濃度 (5 nM および 50 nM) の STMN 2 オリゴヌクレオチドバリエーションは、対照群 (細胞のみ) の約 60% であった全長 STMN 2 タンパク質濃度をもたらした。注目すべきことに、STMN 2 オリゴヌクレオチドバリエーション 500 nM での処置は、全長 STMN 2 タンパク質のほぼ 100% の回復をもたらした (細胞のみの対照群と比較して)。

30

【0552】

【実施例 6】

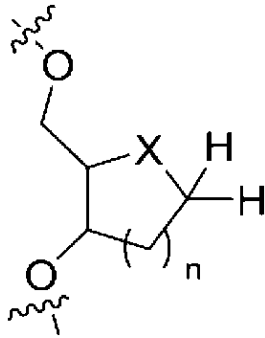
スパーサーテクノロジーを用いた STMN 2 AON は、全長 STMN 2 を回復させ、隠れエクソンを有する STMN 2 転写物を低減する

2 つまたは 3 つのスパーサーを有する STMN 2 AON を開発した。ここで、スパーサーは、式 (I)

【0553】

40

【化 5 0】



式 (I)

10

(式中、
Xは、 $-O-$ であり；
nは、1である)
によって表される。

【0554】

STMN2 AON (例えば、それぞれ2つのスペーサーを有するSTMN2オリゴヌクレオチド)を、ヒト運動ニューロン(hMN)において、TDP43サイレンス細胞における全長STMN2 mRNA (すなわち、全長STMN2を翻訳するmRNA) レベルを増加させるか、または回復させるそれらの能力について試験した。ある場合には、STMN2オリゴヌクレオチドを、隠れエクソンを有するSTMN2転写物を低減するそれらの能力について試験する。以下にさらに記載されるように、定量化されたSTMN2-FLの増加／回復パーセンテージおよび／または隠れエクソンを有するSTMN2転写物の低減パーセンテージは、対照群(例えば、500 nMのTDP43 AONを用いて処理された細胞)におけるSTMN-FLおよび／または隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルと対比して記載される。

20

【0555】

2つのスペーサーを有する3つの異なるSTMN2オリゴヌクレオチドを生成した。これらの3つの例となるSTMN2オリゴヌクレオチドを、1) 配列番号1589 (位置11に第1のスペーサーおよび位置22に第2のスペーサーを有する25mer)、2) 配列番号1590 (位置7に第1のスペーサーおよび位置14に第2のスペーサーを有する25mer)、ならびに3) 配列番号1591 (位置8に第1のスペーサーおよび位置19に第2のスペーサーを有する25mer)と名付ける。STMN2 AONを、表11に示す。

30

【0556】

40

50

【表 13】

表 11:STMN2 AON(STMN2 親オリゴヌクレオチドおよび2つのスパーサーを有するSTMN2 オリゴヌクレオチドを含む)

配列 ID 番号 (配列番号)	配列(<u>S</u> は、スパーサーの存在を示す)(5'→3')
144	AATCCAATTAAGAGAGAGTGATGGG
1589	AATCCAATTA <u>S</u> GAGAGAGTGAS <u>G</u> GG
173	GAGTCCTGCAATATGAATATAAATTT
1590	GAGTCC <u>S</u> GCAATA <u>S</u> GAATATAAATTT
237	GCACACATGCTCACACAGAGAGCCA
1591	GCACACA <u>S</u> GCTCACACAG <u>S</u> GAGCCA

10

【0557】

図26Aを参照すると、隠れエクソンを有するSTMN2転写物の量は、TDP43 AON 500 nMで処理したとき、27倍より大きく増加した。配列番号144を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを71%低減した。配列番号1589を有するSTMN2 AON 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを88%低減した。本明細書では、配列番号1589は、配列番号144(2つのスパーサーを有さない)と比較して、隠れエクソンのSTMN2転写物のさらなる低減を示した。配列番号173を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを77%低減した。配列番号1590を有するSTMN2 AON 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを48%低減した。配列番号237を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを93%低減した。配列番号1591を有するSTMN2 AON 500 nMでの処理は、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを96%低減した。ここで、配列番号1591は、配列番号237(2つのスパーサーを有さない)と比較して、隠れエクソンを有するSTMN2転写物の同様の低減を示した。

20

30

【0558】

図26Bを参照すると、STMN2-FLは、TDP43 AON 500 nMで処理したとき、68%減少した。配列番号144を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを165%(85%までレスキュー)増加させた。配列番号1589を有するSTMN2 AON 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを256%(114%までレスキュー)増加させた。ここで、配列番号1589は、配列番号144(2つのスパーサーを有さない)と比較して、STMN2 FL mRNAの回復の改善を示した。配列番号173を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを184%(91%までレスキュー)増加させた。配列番号1590を有するSTMN2 AON 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを156%(82%までレスキュー)増加させた。ここで、配列番号1590は、配列番号173(2つのスパーサーを有さない)と比較して、STMN2 FL mRNAの同様の回復を示した。配列番号237を有するSTMN2親オリゴヌクレオチド 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを225%(104%までレスキュー)増加させた。配列番号1591を有するSTMN2 AON 500 nMでの処理は、STMN-FLレベルを225%(104%までレスキュー)増加させた。こ

40

50

こで、配列番号 1 5 9 1 は、配列番号 2 3 7 (2つのスペーサーを有さない)と比較して、STMN2 FL mRNAの同様の回復を示した。

【0559】

さらなる例となるSTMN2 AON (表11において上で記載したSTMN2 AONを含む)を、表12において以下で示す。具体的には、表12は、例となる、2つのスペーサーを有するSTMN2 AONおよび3つのスペーサーを有するSTMN2 AONを含む。さらに、表12は、表11において上で記載したSTMN2親オリゴヌクレオチドと比較して、例となる、長さ(例えば、23mer、21merまたは19mer)がより長い1つまたは複数のスペーサーを有するSTMN2 AONバリエーションを含む。

【0560】

10

20

30

40

50

【表 1 4 - 1】

表 12:2 つまたは 3 つスパーサーを有する STMN2 AON および 2 つのスパーサーを有する STMN2 AON バリエーション

配列 ID 番号 (配列番号)	配列(S は、スパーサーの存在を示す)(5'→3')
144	AATCCAATTAAGAGAGAGTGATGGG
1589	AATCCAATTA\$GAGAGAGTGAS\$GGG
1592	AATCCAAS\$TAAGAGAS\$AGTGATG\$G
1593	AATCCAAS\$TAAGAGASAGTGAT\$GG
1594	A\$TCCAATT\$AGAGAGAS\$TGATGGG
1417	AATCC\$ATTAS\$GAGAGAGS\$GATGGG
1595	TCCAATT\$AGAGAGAS\$TGATGGG
173	GAGTCCTGCAATATGAATATAATTT
1590	GAGTCC\$GCAATAS\$GAATATAATTT
1596	GAGTCCT\$CAATATG\$ATATAAT\$T
1597	GAG\$CCTGCAAS\$ATGAAT\$TAATTT
1418	GAGTCC\$GCAATAS\$GAATATA\$TTT
1598	GTCCTGCS\$ATATGAAS\$ATAAT
1599	GTCCT\$CAATATG\$ATATAAT
1419	GTCC\$GCAATAS\$GAATATA
237	GCACACATGCTCACACAGAGAGCCA
1591	GCACACAS\$GCTCACACAG\$GAGCCA
1600	GCACACAS\$GCTCACAS\$AGAGAG\$CA
1601	GC\$CACATG\$TCACACAS\$AGAGCCA
1420	GCACACAS\$GCTCACAS\$AGAGSGCCA
1602	GCACACAS\$GCTCACAS\$AGAGAGC
1603	AAT\$CAATTAAGAG\$GAGTGATGGG
1604	AATCCAATTA\$GAGAGAGTG\$TG
1605	AATCCA\$TTAAGAGAGAG\$GATGGG
1606	AATCCA\$TTAAGAGAGAS\$TGATGGG
1607	AATCCAAS\$TAAG\$GAGAS\$TGATGGG
1608	GAG\$CCTGCAATAT\$AATATAATTT
1609	GAGTCCTGCA\$TATGAATAT\$ATTT

10

20

30

40

【0 5 6 1】

【表 1 4 - 2】

1610	GAGTCC <u>S</u> GCAATATGAAT <u>S</u> TAATTT
1611	GAGTCC <u>S</u> GCAATATGAAS <u>A</u> TAATTT
1612	GAGTCCT <u>S</u> CAAT <u>S</u> TGAAS <u>A</u> TAATTT
1613	GAGTCC <u>S</u> GCAAT <u>S</u> TGAAT <u>S</u> TAATTT
1614	GAGTC <u>S</u> TGCAAT <u>S</u> TGAATAS <u>A</u> ATTT
1615	GAGT <u>S</u> CTGCAAT <u>S</u> TGAATATS <u>A</u> TTT
1616	GTCCTGC <u>S</u> ATATG <u>S</u> ATATAAT
1617	CCTTTCTC <u>S</u> CGAAGGTCTTC <u>S</u> GCCG
1618	CTTTCTC <u>S</u> CGAAGGT <u>S</u> TTCTGCC
1619	TTTCTCT <u>S</u> GAAGGTC <u>S</u> TCTGCCG
1664	GCACACAS <u>G</u> C <u>S</u> CACACAG <u>S</u> GAGCCA
1621	GCACACAS <u>G</u> CTC <u>S</u> CACAS <u>A</u> GAGCCA

10

20

【0 5 6 2】

30

表 1 3 は、2 つまたは 3 つのスペーサーを有する STMN2 AON を含む、STMN2 AON の性能を示す。

【0 5 6 3】

2 つのスペーサーを含む STMN2 AON は、STMN2-FL のレベルを増加させた。例えば、ASO 200 nM の用量で、配列番号 1 6 0 8 および配列番号 1 6 0 9 は、STMN-FL のレベルを、それぞれ、0.65 および 0.78 に増加させた。加えて、ASO 200 nM の用量で、配列番号 1 6 1 0 および配列番号 1 6 1 1 は、STMN-FL のレベルを、それぞれ、0.95 および 1.09 に増加させた。注目すべきことに、多数の STMN2 AON が、STMN-FL のレベルをより低い程度まで増加させた。具体的には、STMN2 AON 200 nM の用量で、配列番号 1 6 1 2、配列番号 1 6 1 3、配列番号 1 6 1 4、および配列番号 1 6 1 5 は、STMN-FL のレベルを 0.10 ~ 0.20 に増加させた。

40

【0 5 6 4】

AON 200 nM の用量で、配列番号 1 9 7 に由来するすべての STMN2 AON は、STMN-FL のレベルを有意に増加させた。具体的には、配列番号 1 6 1 7、配列番号 1 6 1 8、および配列番号 1 6 1 9 は、STMN-FL のレベルを、それぞれ、0.99、0.94、および 1.00 に増加させた。

【0 5 6 5】

まとめると、これらの結果は、2 つのスペーサーを含む異なる STMN2 AON が、STMN-FL を、それらの非スペーサー対応物（例えば、配列番号 1 7 3 または配列番

50

号 197) と近い、または同等であるレベルに増加させる能力を有することを示す。

【0566】

配列番号 1612、配列番号 1613、配列番号 1614、および配列番号 1615 を含む、配列番号 173 に由来する STMN2 AON と、配列番号 1617、配列番号 1618、および配列番号 1619 を含む、配列番号 197 に由来する STMN2 AON の間の性能の差は、それぞれの STMN2 AON における GC 含量に起因し得る。具体的には、表 13 に示す通り、配列番号 173 に由来する STMN2 AON は、30% 未満の GC 含量を有し、それが、それらの性能の低減を導き得る。対照的に、表 13 において示す通り、配列番号 197 に由来する STMN2 AON は、40% より高い GC 含量を有していた。したがって、より多い GC 含量において 2 つ以上のスパーサーを含む、AON が好ましい。

10

【0567】

GC 含量に加えて、グアニンおよびシトシン核酸塩基に対するスパーサーの位置はまた、STMN2 AON の性能に影響を与え得る。例えば、AON 200 nM の用量で、配列番号 1615、配列番号 1596、および配列番号 1597 は、STMN2-FL のレベルを、0.12、0.26、および 0.29 に増加させた。これらの STMN2 AON のそれぞれは、3 つのスパーサーを有する。比較して、AON 200 nM の用量で、配列番号 1418 は、STMN2-FL のレベルを 0.73 に増加させた。配列番号 1418 は、グアニン塩基の直前のスパーサーの数を最大にするように位置するスパーサーを含む。具体的には、配列番号 1418 の第 1 および第 2 のスパーサーは、それぞれ、グアニン塩基の前に位置する。したがって、グアニン塩基の直前の STMN2 AON におけるスパーサーの数を最大にすることは、STMN2 AON の性能を改善することができる。

20

【0568】

30

40

50

【表 15】

表 13.2 つまたは 3 つのスペーサーを有する STMN2 AON を含む、様々な STMN2 AON の性能

配列 ID 番号(配 列番号)	配列(S は、スペーサーの存在を示 す)(5'→3')	ASO 200nM で の処理に 応答した STMN-FL の 相対量	ASO 50nM で の処理に 応答した STMN- FL の相対量	GC 含 量
169	CCTGCAATATGAATATAATTTTAAA	0.73	0.45	20%
1421	CCTGCAATATGAATATAATTTTA	1.19	0.48	22%
1422	TGCAATATGAATATAATTTTAAA	0.85	0.63	13%
1423	CTGCAATATGAATATAATTTTAA	0.93	0.69	17%
1424	TGCAATATGAATATAATTTTA	0.8	0.44	14%
170	TCCTGCAATATGAATATAATTTTAA	1.01	0.46	20%
1425	TCCTGCAATATGAATATAATTTT	0.83	0.49	22%
1426	CTGCAATATGAATATAATTTT	0.83	0.57	19%
171	GTCCTGCAATATGAATATAATTTTA	0.89	0.41	24%
1346	GTCCTGCAATATGAATATAATTT	1.1	1.13	26%
1355	CCTGCAATATGAATATAATTT	0.82	0.44	24%
172	AGTCCTGCAATATGAATATAATTTT	0.79	0.45	24%
1427	AGTCCTGCAATATGAATATAATT	0.89	0.52	26%
1428	TCCTGCAATATGAATATAATT	1.18	0.66	24%
252	CTCTCTCGCACACACGCACACATGC	0.67	0.43	60%
1432	CTCTCTCGCACACACGCACACATGC	0.67	0.52	61%
1433	CTCTCTCGCACACACGCACACAT	0.63	0.24	57%
1434	TCTCTCGCACACACGCACACATG	0.73	0.45	57%
1435	CTCTCTCGCACACACGCACACAT	0.84	0.36	57%
173	GAGTCCTGCAATATGAATATAATTT	1.12	0.6	28%
1608	GAGSCCTGCAATATSAATATAATTT	0.65	0.19	24%
1609	GAGTCCTGCASTATGAATATSATTT	0.78	0.25	28%
1610	GAGTCCSGCAATATGAATSTAATTT	0.95	0.43	28%
1611	GAGTCCSGCAATATGAASATAATTT	1.09	0.32	28%
1612	GAGTCCTSCAATSTGAASATAATTT	0.15	0.08	24%
1613	GAGTCCSGCAATSTGAATSTAATTT	0.2	0.13	28%
1614	GAGTCSTGCAATSTGAATASAATTT	0.13	0.18	24%
1615	GAGTSCSTGCAATSTGAATATSATTT	0.12	0.12	24%
1596	GAGTCCTSCAATATGSATATAATST	0.26	0.13	24%
1597	GAGSCCTGCAASATGAATSTAATTT	0.29	0.17	28%
1418	GAGTCCSGCAATASGAATATASTTT	0.73	0.24	28%
1598	GTCCTGCSATATGAASATAAT	0.72	0.31	29%
1599	GTCCTSCAATATGSATATAAT	0.1	0.16	24%
1616	GTCCTGCSATATGSATATAAT	0.77	0.23	29%
197	CCTTTCTCTCGAAGGTCTTCTGCCG	1.04	0.44	56%
1429	TTTCTCTCGAAGGTCTTCTGCCG	1.35	1.06	48%
1430	CCTTTCTCTCGAAGGTCTTCTGCG	0.98	0.44	48%
1431	CTTTCTCTCGAAGGTCTTCTGCC	1.33	0.55	48%
1617	CCTTTCTCSCGAAGGTCTTCSGCCG	0.99	0.69	56%
1618	CTTTCTCSCGAAGGTSTTCTGCC	0.94	0.58	48%
1619	TTTCTCTSGAAGGTCTTCTGCCG	1	0.54	48%

【0569】

【実施例 7】

さらなる実験は、スペーサーテクノロジーを用いた STMN2 AON が、全長 STMN2 を回復させ、隠れエクソンを有する STMN2 転写物を低減することを示す

1 つ、2 つ、または 3 つのスペーサーを有する STMN2 AON を開発した。一般に、本実施例では、以下に記載する配列番号 1649 を除き、スペーサーは、式 (I)

【0570】

10

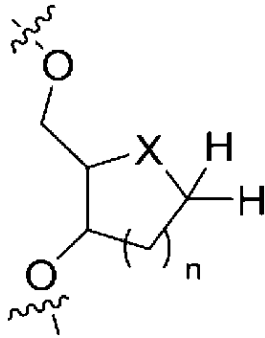
20

30

40

50

【化 5 1】



式 (I)

10

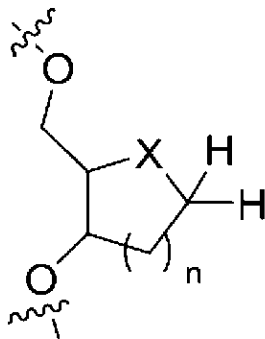
(式中、
X は、 $-O-$ であり；
n は、1である)
によって表される。

配列番号 1 6 4 9 について、A S O に含まれるそれぞれのスペーサーは、式 (I)

【0 5 7 1】

【化 5 2】

20



式 (I)

30

(式中、
X は、 $-O-$ であり；
n は、2である)
によって表される。

【0 5 7 2】

スペーサーを有する S T M N 2 A O N を特徴付け、スペーサー対応物を有さない S T M N 2 A O N と比較した。具体的には、スペーサーを有する S T M N 2 A O N および S T M N 2 A O N を有さない S T M N 2 A O N の融点を決定して、S T M N 2 A O N の構造の違いを示した。表 1 4 は、2つの異なる複製物にわたる S T M N 2 A O N の異なる融点を示す。2つのスペーサーを有する S T M N 2 A O N は、スペーサーを有さない S T M N 2 A O N と比較して、より低い融点（およそ 1 0 °C 低い）を示した。

40

【0 5 7 3】

50

【表 16】

表 14: スペーサーを有する STMN2 AON およびスペーサーを有さない STMN2 AON の融点

ASO+RNA 標的 (25 塩基)	Tm(°C)複製物 1	Tm(°C) 複製物 2	ΔTm°C複製 物 1	ΔTm°C複製 物 2	%GC
配列番号 237 (ス ペーサーなし)	86.6	86.5	11.6	11.4	56
配列番号 1591 (2 つのスペーサ ー)	75.0	75.1			
配列番号 144 (スペーサーなし)	75.5	75.5	9.5	9.7	40
配列番号 1589 (2 つのスペーサ ー)	66.0	65.8			
配列番号 173 (ス ペーサーなし)	71.2	71.1	13.5	13.5	28
配列番号 1590 (2 つのスペーサ ー)	57.7	57.6			

10

20

【0574】

STMN2 AON (例えば、1つ、2つ、または3つのスペーサーを有するSTMN2オリゴヌクレオチド)を、TDP43サイレンス細胞における全長STMN2 mRNA (すなわち、全長STMN2を翻訳するmRNA) レベルを増加させるか、または回復させるそれらの能力について試験した。ある場合には、STMN2オリゴヌクレオチドを、隠れエクソンを有するSTMN2転写物を低減するそれらの能力について試験する。図27～35は、全長STMN2 mRNA (「STMN2 FL」) の増加および／または隠れエクソンを有するSTMN2転写物 (「STMN2 隠れ」) の増加におけるスペーサーを有するSTMN2 AONの効果を示す。さらに、表15は、それぞれのSTMN2 AONならびにそれらのそれぞれの性能を同定する。処理群を、図27～35のX軸に同定し、特定のAON配列の濃度を含む。ここで、特定のAON配列を、それらの対応する配列番号により標識する。

30

【0575】

図27Aは、TDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号173、配列番号1608、配列番号1609、配列番号1610、配列番号1611、配列番号1612、配列番号1613、配列番号1614、配列番号1615、配列番号1596、配列番号1597、および配列番号1418を含む異なるSTMN2 AONを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。図27Bは、TDP43アンチセンスの存在下でのSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号173、配列番号1608、配列番号1609、配列番号1610、配列番号1611、配列番号1612、配列番号1613、配列番号1614、配列番号1615、配列番号1596、配列番号1597、および配列番号1418を含む異なるSTMN2 AONを使用した全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。一般に、図27Aおよび27Bは、スペーサーを有さないSTMN2 AON (配列番号173) と比較した、スペーサー (例えば、配列番号1608、配列番号1609、配列番号1610、配列番号1611、配列番号1612、配列番号1613、配列番号1614、配列番号1615、配列番号1596、配列番号1597、および配列

40

50

番号1418)を有するSTMN2 AONの性能を示す。ここで、多数の、スパーサーを有するSTMN2 AONが同様に機能するか、またはスパーサーを有さないSTMN2 AON(配列番号173)より優れている。具体的には、配列番号1609、配列番号1610、および配列番号1611 200nMは、スパーサーを有さないSTMN2 AON(配列番号173)と比較して、TDP43の存在下で、同等のレベルの隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルおよびSTMN2全長mRNAレベルを達成する。

【0576】

図28Aは、TDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号173、配列番号1632、配列番号1346、配列番号1631、配列番号1353、および配列番号1598を含む異なるSTMN2 AONを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。図28Bは、TDP43アンチセンスの存在下でのSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号173、配列番号1632、配列番号1346、配列番号1631、配列番号1353、および配列番号1598を含む異なるSTMN2 AONを使用した全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。一般に、図28Aおよび28Bは、スパーサー(例えば、配列番号173、配列番号1346、および配列番号1353)を有さないそれらのSTMN2 AON対応物と比較した、スパーサー(例えば、配列番号1632、配列番号1631、および配列番号1598)を有するSTMN2 AONの性能を示す。ここで、配列番号1632 50nMまたは200nMの用量は、スパーサーを有さないSTMN2 AON対応物(配列番号173) 50nMまたは200nMの用量と比較して、TDP43の存在下で、同等のレベルの隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルおよびSTMN2全長mRNAレベルを達成する。配列番号1631 200nMの用量は、スパーサーを有さないSTMN2 AON対応物(配列番号1346) 200nMの用量と比較して、TDP43の存在下で、同等のレベルのSTMN2全長mRNAレベルを達成する。

【0577】

図29Aは、TDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号173および配列番号1610を含む異なるSTMN2 AONを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。図29Bは、TDP43アンチセンスの存在下でのSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号173および配列番号1610を含む異なるSTMN2 AONを使用した全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。一般に、図29Aおよび29Bは、スパーサー(例えば、配列番号173)を有さないSTMN2 AON対応物と比較した、スパーサー(例えば、配列番号1610)を有するSTMN2 AONの性能を示す。異なる用量(例えば、500nM、200nM、50nM、20nM、および5nM)にわたり、配列番号1610は、スパーサーを有さないSTMN2 AON対応物(配列番号173)と比較して、TDP43の存在下で、同等のレベルの隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルおよびSTMN2全長mRNAレベルを達成する。

【0578】

図30Aは、TDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号185および配列番号1635を含む異なるSTMN2 AONを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。図30Bは、TDP43アンチセンスの存在下でのSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号185および配列番号1635を含む異なるSTMN2 AONを使用した全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。一般に、図30Aおよび30Bは、スパーサー(例えば、配列番号185)を有さないSTMN2 AON対応物と比較した、

スペーサー（例えば、配列番号1635）を有するSTMN2 AONの性能を示す。異なる用量（例えば、500 nM、200 nM、50 nM、20 nM、および5 nM）にわたり、配列番号1610は、スペーサーを有するSTMN2 AON対応物（配列番号185）と比較して、TDP43の存在下で、同等または低減したレベルの隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルおよび同等または増加したSTMN2全長mRNAレベルを達成する。

【0579】

図31Aは、TDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号1347、配列番号1633、および配列番号1634を含む異なるSTMN2 AONを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。図31Bは、TDP43アンチセンスの存在下でのSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号1347、配列番号1633、および配列番号1634を含む異なるSTMN2 AONを使用した全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。一般に、図31Aおよび31Bは、スペーサー（例えば、配列番号1347）を有するSTMN2 AON対応物と比較して、スペーサー（例えば、配列番号1633および配列番号1634）を有するSTMN2 AONの性能を示す。異なる用量（例えば、500 nM、200 nM、50 nM、20 nM、および5 nM）にわたり、配列番号1633は、スペーサーを有さないSTMN2 AON対応物（配列番号1347）と比較して、TDP43の存在下で、同等または低減したレベルの隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルおよび同等または増加したSTMN2全長mRNAレベルを達成する。同様に、異なる用量（例えば、500 nM、200 nM、50 nM、20 nM、および5 nM）にわたり、配列番号1634は、スペーサーを有さないSTMN2 AON対応物（配列番号1347）と比較して、TDP43の存在下で、同等または低減したレベルの隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルおよび同等または低減したSTMN2全長mRNAレベルを達成する。

【0580】

図32Aは、TDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号197、配列番号1617、配列番号1618、および配列番号1619を含む異なるSTMN2 AONを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。図32Bは、TDP43アンチセンスの存在下でのSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号197、配列番号1617、配列番号1618、および配列番号1619を含む異なるSTMN2 AONを使用した全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。一般に、図32Aおよび32Bは、スペーサー（例えば、配列番号197）を有さないSTMN2 AON対応物と比較して、スペーサー（例えば、配列番号1617、配列番号1618、および配列番号1619）を有するSTMN2 AONの性能を示す。50 nMまたは200 nMの用量で、配列番号1617は、スペーサーを有さないSTMN2 AON対応物（配列番号197）50 nMまたは200 nMの用量と比較して、TDP43の存在下で、同等のレベルまたは低減したレベルの隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルおよび同等または増加したSTMN2全長mRNAレベルを達成する。50 nMまたは200 nMの用量で、配列番号1618は、スペーサーを有さないSTMN2 AON対応物（配列番号197）50 nMまたは200 nM用量と比較して、TDP43の存在下で、同等または低減したレベルの隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルおよび同等または増加したSTMN2全長mRNAレベルを達成する。50 nMまたは200 nMの用量で、配列番号1619は、スペーサーを有さないSTMN2 AON対応物（配列番号197）50 nMまたは200 nMの用量と比較して、TDP43の存在下で、同等または低減したレベルの隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルおよび同等または増加したSTMN2全長mRNAレベルを達成する。

【0581】

図33Aは、TDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号252、配列番号1650、配列番号1434、配列番号1651、および配列番号1620を含む異なるSTMN2 AONを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。図33Bは、TDP43アンチセンスの存在下でのSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号252、配列番号1650、配列番号1434、配列番号1651、および配列番号1620を含む異なるSTMN2 AONを使用した全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。一般に、図33Aおよび33Bは、スパーサー（例えば、配列番号252、配列番号1650、配列番号1434、および配列番号1651）を有さないSTMN2 AON対応物と比較した、スパーサー（例えば、配列番号1620）を有するSTMN2 AONの性能を示す。50 nMまたは200 nMの用量で、配列番号1620は、スパーサーを有さないSTMN2 AON対応物（配列番号252、配列番号1650、配列番号1434、および配列番号1651）50 nMまたは200 nMの用量と比較して、TDP43の存在下で、同等または低減したレベルの隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルおよび同等または増加したSTMN2全長mRNAレベルを達成する。

10

【0582】

図34Aは、TDP43アンチセンスの存在下での隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号1434および配列番号1620を含む異なるSTMN2 AONを使用した隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルの低減を示す棒グラフである。図34Bは、TDP43アンチセンスの存在下でのSTMN2全長mRNAレベルのRT-qPCR分析の結果、ならびに配列番号1434および配列番号1620を含む異なるSTMN2 AONを使用した全長STMN2転写物の回復を示す棒グラフである。一般に、図34Aおよび34Bは、スパーサー（例えば、配列番号1434）を有さないSTMN2 AON対応物と比較した、スパーサー（例えば、配列番号1620）を有するSTMN2 AONの性能を示す。異なる用量（例えば、500 nM、200 nM、50 nM、20 nM、および5 nM）にわたり、配列番号1620は、スパーサーを有さないSTMN2 AON対応物（配列番号1434）と比較して、TDP43の存在下で、低減したレベルの隠れエクソンを有するSTMN2転写物のmRNAレベルおよび増加したSTMN2全長mRNAレベルを達成する。

20

30

【0583】

図35は、TDP43アンチセンスでの処理後に正規化したSTMN2タンパク質レベルならびに配列番号144、配列番号1589、配列番号173、配列番号1616、配列番号237、および配列番号1591を含むSTMN2 AON 500 nMを使用した回復を示す棒グラフである。一般に、図35は、スパーサー（例えば、配列番号144、配列番号173、配列番号237）を有さないそれらのSTMN2 AON対応物を比較した、スパーサー（例えば、配列番号1589、配列番号1616、および配列番号1591）を有するSTMN2 AONの性能を示す。一般に、スパーサーを有さないSTMN2 AONは、それらのSTMN2 AON対応物と比較して、同等のレベルのSTMN2タンパク質レベルを達成することができる。具体的には、配列番号1589は、配列番号144と比較して、同等のレベルのSTMN2タンパク質レベルを達成する。配列番号1616は、配列番号173と比較して、同等のレベルのSTMN2タンパク質レベルを達成する。配列番号1591は、配列番号237と比較して、同等のレベルのSTMN2タンパク質レベルを達成する。

40

【0584】

表15および17を参照すると、それらは、ヒト運動ニューロンにおける、スパーサーを有するSTMN2 AONの性能（例えば、表15）およびスパーサーを有さないSTMN2 AONの性能（例えば、表16）を示す。表15および17に提供したSTMN

50

2 全長転写物についての結果は、式 $\left(\left(RQASO - RQTDP43 \right) / \left(Rqendo - RQTDP43 \right) \right) * 100$ (式中、RQは、上で記載した相対量を指す) を使用して正規化した値である。表15および17に提供した隠れエクソンを有するSTMN2転写物についての結果は、式 $\left(1 - \left(\left(RQASO - RQTDP43 \right) / \left(Rqendo - RQTDP43 \right) \right) \right) * 100$ (式中、RQは、上で記載した相対量を指す) を使用して正規化した値である。それぞれのRT-qPCR実験を、トリプリケートのウェルで行い、N数回、独立して繰り返し行った。標準偏差またはSDを、それぞれの実行の間でのSDとして算出する。N=1である場合、SDを、単一の実験におけるトリプリケートのウェルの結果の間での標準偏差として報告した。注目すべきことに、表15に示した通り、配列番号1631 (2つのスパーサーを有するGTCCTGCSATATGAASATAATT) 200nMの容量は、全長STMN2 mRNAを69%に低減し、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを49%に減少した(51%低減した)。

10

【0585】

加えて、表15に示した通り、配列番号1633 (2つのスパーサーを有するGTCCTCTSCCGAGTCTGCAATA) 200nMの容量は、全長STMN2 mRNAを83%に低減し、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを10%に低減した(90%低減した)。比較してみると、表16に示した通り、配列番号1347 (スパーサーを有さないGTCCTCTGCGAGTCTGCAATA) 200nMの容量は、全長STMN2 mRNAを40.2%に低減し、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを20.8%に低減した(80.2%低減した)。これは、スパーサーの付加が、スパーサーを有さないSTMN2 AON対応物 (例えば、配列番号1347) と比較して、配列番号1633の性能を改善することを示す。

20

【0586】

加えて、表15に示した通り、配列番号1618 (2つのスパーサーを有する) 200nMの容量は、全長STMN2 mRNAを82%に低減し、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを11%に低減した(89%低減した)。配列番号1619 (2つのスパーサーを有する) 200nMの容量は、全長STMN2 mRNAを80%に低減し、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを12%に低減した(88%低減した)。比較してみると、表16に示した通り、配列番号197 (スパーサーを有さないCCTTTCTCTCGAAGGTCTTCTGCGG) 200nMの容量は、全長STMN2 mRNAを79.3%に低減し、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを12.1%に低減した(87.9%低減した)。ここで、200nMの容量で、2つのスパーサー (例えば、配列番号1618および配列番号1619) を有するSTMN2 AONの性能は、スパーサー (例えば、配列番号197) を有さないSTMN2 AON対応物と同等である。注目すべきことに、50nMの容量で、2つのスパーサー (例えば、配列番号1618および配列番号1619) を有するSTMN2 AONの性能は、スパーサー (例えば、配列番号197) を有さないSTMN2 AON対応物と比較して改善する。具体的には、50nMの容量で、配列番号1618は、全長STMN2 mRNAを46%に低減し、配列番号1619は、全長STMN2 mRNAを42%に低減し、一方、配列番号197 (スパーサーを有さない) は、全長STMN2 mRNAを26.7%に低減した。

30

40

【0587】

加えて、表15に示した通り、配列番号1620 (2つのスパーサーを有するTCTCTCTCGSACACACGSACACATG) 200nMの容量は、全長STMN2 mRNAを103%に低減し、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを1%に低減した(99%低減した)。配列番号1620 50nMの容量は、全長STMN2 mRNAを74%に低減し、隠れエクソンを有するSTMN2転写物のレベルを5%に低減した(95%低減した)。比較してみると、表16に示した通り、配列番号1434 (スパーサーを有さないTCTCTCTCGCACACACGACACATG) 200nMの容量および50nMの容量は、全長STMN2 mRNAを、それぞれ、77.5%お

50

よび 16.6% に低減し、隠れエクソンを有する STMN2 転写物のレベルを、それぞれ、2.7% (97.3% 低減) および 18.3% (81.7% 低減) に低減した。これは、スパーサーの付加が、スパーサー（例えば、配列番号 1434）を有さない STMN2 AON 対応物と比較して、配列番号 1620 の性能を改善することを示す。

【0588】

【表 17-1】

表 15: STMN2 AON(1 つ、2 つ、または 3 つのスパーサーを有する STMN2 オリゴヌクレオチド)の性能

配列番号	配列(Sは、スパーサーの存在を示す)(5'→3')	hMN STMN2 FL. における QPCR の効力						hMN STMN2 隠れにおける QPCR の効力					
		50 nM			200 nM			50 nM			200 nM		
		N	平均	SD	N	平均	SD	N	平均	SD	N	平均	SD
1622	TGCAATASGAATATATATTTTAAA	1	1	1	1	47	12	1	76	24	1	340	92
1623	TCCTGCASTATGAATSTAATTTT	1	6	3	1	31	16	1	82	17	1	100	44
1624	CTGCAATATGSATATAATTTT	1	5	7	1	11	5	1	104	25	1	61	10
1625	CTGCAATSTGAATATSATITTTAA	1	2	8	1	-4	2	1	116	15	1	147	9
1626	CCTGCAATATSAATATAATTT	1	2	2	1	42	7	1	65	5	1	59	14
1627	TCCTGCAATASGAATATAATT	1	19	5	1	65	1	1	85	17	1	36	2
1628	GTCCTGCSATATGAASATAAT	5	20	6	5	65	9	5	79	28	5	45	5
1629	GTCCTSCAATATGSATATAAT	4	5	6	4	13	22	4	119	31	4	133	53
1630	GTCCTGCSATATGSATATAAT	4	16	9	4	71	23	4	97	23	4	51	17
1631	GTCCTGCSATATGAASATAATTT	1	13	9	1	69	3	1	81	10	1	49	4
1596	GAGTCTSCAATATGSATATAATST	1	3	4	1	18	9	1	52	41	1	50	41
1597	GAGSCCTGCAASATGAATSTAATTT	1	7	11	1	20	15	1	79	1	1	82	24
1418	GAGTCCSGCAATASGAATATATSTTT	1	15	2	1	69	13	1	70	23	1	48	8
1632	GAGTCTGCAATATSAATATAATTT	1	27	5	1	75	6	1	55	1	1	24	2
1608	GAGSCCTGCAATATSAATATAATTT	1	10	8	1	60	15	1	44	34	1	30	14
1609	GAGTCTGCASTATGAATATSATTT	3	17	7	3	70	25	3	67	16	3	42	15
1610	GAGTCCSGCAATATGAATSTAATTT	4	29	11	4	83	21	4	76	20	4	40	17
1611	GAGTCCSGCAATATGAASATAATTT	3	23	3	3	95	46	3	60	22	3	41	8
1612	GAGTCTSCAATSTGAASATAATTT	1	-2	2	1	5	3	1	106	26	1	92	22
1613	GAGTCCSGCAATSTGAATSTAATTT	1	3	2	1	11	3	1	100	37	1	96	18
1614	GAGTCTGCAATSTGAATASAATTT	1	8	1	1	2	4	1	94	38	1	101	4
1615	GAGTCTGCAATSTGAATATSATTT	1	1	2	1	2	5	1	90	10	1	99	19
1633	GTCTTCTSCCGAGTCTGCAATA	2	53	3	2	83	23	2	45	8	2	10	2

【0589】

【表 17-2】

1634	GTCTTCTGCCGSGTCCTGCAATA	2	31	21	2	74	0	2	41	6	2	12	5
1635	AGGTCTTCSGCCGAGTCCSGCAATA	1	23	2	0	N/A	N/A	1	43	6	0	N/A	N/A
1617	CCTTCTCSCGAAGGTCTTCSGCCG	5	49	17	5	89	28	5	24	5	5	9	5
1618	CTTCTCSCGAAGGTCTTCTGCC	3	46	13	3	82	22	3	35	15	3	11	3
1619	TTTCTCTSCGAAGGTCTCTGCCG	2	42	8	2	80	28	2	40	3	2	12	1
1620	TCTCTCGSACACACGSACACATG	4	74	22	4	103	15	4	5	3	3	1	1
1589	AATCCAATTASGAGAGAGTGASGGG	1	7	1	1	32	1	1	107	14	1	47	22
1590	GAGTCCSGCAATASGAATATAATTT	1	23	2	1	63	1	1	76	4	1	47	4
1591	GCACACASGCTCACACAGSGAGCCA	1	45	5	1	86	6	1	11	5	1	2	1
1636	GT* <i>C</i> * <i>C</i> *TGCSATATGAASATAAT	1	18	7	1	53	3	1	75	13	1	74	9
1637	GT* <i>C</i> * <i>C</i> *TSCAATATGSATATAAT	1	4	7	1	2	3	1	130	12	1	105	34
1638	GT* <i>C</i> * <i>C</i> *TGCSATATGSATATAAT	1	24	19	1	41	5	1	75	1	1	68	9
1639	GTCTTCTSCCGAGT* <i>C</i> * <i>S</i> * <i>T</i> *GCAATA	1	26	7	1	67	15	1	60	33	1	30	4
1640	GT* <i>C</i> * <i>T</i> * <i>C</i> *TGCCGSGTCCTGCAATA	1	33	8	1	63	11	1	36	9	1	17	6
1641	GTCTTCTGCC* <i>G</i> * <i>S</i> * <i>G</i> *TCTGCAATA	1	21	11	1	91	11	1	34	23	1	23	4
1642	CCTTCTCSCGAAGGTCT* <i>T</i> * <i>C</i> *SGCCG	2	40	11	2	77	21	2	28	13	2	14	4
1643	CCTTCTCSCGAAGGTCT* <i>C</i> * <i>S</i> * <i>G</i> *CCG	2	40	13	2	77	6	2	21	4	2	15	1
1644	CTTCTCSCGAAGGT* <i>S</i> * <i>T</i> *TCTGCC	1	28	5	1	46	17	1	60	7	1	36	13
1645	GC* <i>A</i> * <i>C</i> * <i>C</i> *ASGCTCACASAGAGAGC	1	30	1	1	73	7	1	22	6	1	4	1
1646	GCACAC* <i>A</i> * <i>S</i> * <i>G</i> *CTCACASAGAGAGC	1	12	9	1	37	8	1	29	1	1	11	4
1647	TC* <i>T</i> * <i>C</i> * <i>T</i> *GSACACACGSACACATG	2	40	1	2	90	7	2	15	1	2	3	2
1648	TCTCTCGSACACACGSA* <i>C</i> * <i>C</i> * <i>A</i> *TG	2	58	5	2	108	7	2	19	2	2	7	4
1649	GTCTTCTS^CCGAGTCS^TGCAATA	3	26	9	3	71	9	3	19	5	3	21	9

* は、ホスホジエステル結合の存在を示す。すべての他の結合は、ホスホロチオエート結

合である。

S[^]は、A S Oの示した位置でのスパーサーを示し、ここで、スパーサーは、式（I）（式中、Xは、－O－であり；nは、2である）に従う。

【0590】

【表18-1】

表 16: STMN2 AON の性能(スパーサーを有さない STMN2 オリゴヌクレオチド)

配列番号	配列(5'→3')	hMN STMN2 FL における QPCR の効力						hMN STMN2 隠れにおける QPCR の効力					
		50 nM			200 nM			50 nM			200 nM		
		N	平均	SD	N	平均	SD	N	平均	SD	N	平均	SD
144	AATCCAATTAAGAGAGAGTGATGGG	1	2	3	1	23	5	1	71	21	1	49	8
146	AAAATCCAATTAAGAGAGAGTGATG	1	11	4	1	19	5	1	45	5	1	36	4
150	TTTAAAAATCCAATTAAGAGAGAGT	3	43.7	39.4	3	46.7	13.7	3	38.7	20.6	3	17.7	7.1
169	CCTGCAATATGAATATAATTTTAAA	3	36.3	5.1	3	72.3	0.6	3	45.3	13.8	3	11.7	2.3
170	TCCTGCAATATGAATATAATTTTAA	3	28.3	13.1	3	86.3	12.3	3	69.3	34.7	3	25.3	10.1
171	GTCCTGCAATATGAATATAATTTTA	3	30.7	6.5	3	85.0	8.9	3	56.3	10.5	3	12.3	2.5
172	AGTCCTGCAATATGAATATAATTTT	3	33.0	8.2	3	79.3	5.1	3	54.7	12.7	3	15.7	5.1
173	GAGTCCTGCAATATGAATATAATTT	6	29.0	13.3	6	81.5	16.1	6	61.3	14.2	6	21.0	7.3
197	CCTTTCTCTCGAAGGTCTTCTGCCG	8	26.7	14.5	8	79.3	31.3	8	44.4	15.4	8	12.1	7.2
237	GCACACATGCTCACACAGAGAGCCA	1	46	4	1	80	3	1	7	1	1	1	0
252	CTCTCTCGCACACACGCACACATGC	5	37.6	20.0	5	69.6	31.1	5	19.0	9.6	5	2.3	1.5
1343	AATCCAATTAAGAGAGAGTGATG	1	7	1	1	15	6	1	56	8	1	33	11
1346	GTCTTGCAATATGAATATAATTT	3	67.3	40.4	3	98.0	10.4	3	49.3	31.0	3	10.3	1.2
1347	GTCTTCTGCCGAGTCCTGCAATA	2	12.5	3.6	2	40.2	16.7	2	55.7	13.2	2	20.8	15.9
1348	GCACACATGCTCACACAGAGAGC	2	45.6	13.6	2	89.5	2.1	2	11.6	7.6	2	0.7	0.4
1351	AATCCAATTAAGAGAGAGTGTA	1.0	10.0	2.0	1.0	12.0	2.0	1.0	69.0	5.0	1.0	35.0	9.0
1353	GICCTGCAATATGAATATAAT	5	48.2	12.9	5	100.5	18.8	5	47.2	11.4	5	18.3	6.0
1353	GT*CC*TG*CAATATGAA*TA*TA*AT	1	36.4	7.0	1	84.3	7.0	1	64.0	5.0	1	32.8	12.0
1355	CCTGCAATATGAATATAATTT	4	50.0	9.3	4	79.0	19.5	4	21.5	7.2	4	7.0	2.2
1421	CCTGCAATATGAATATAATTTTA	1.0	44.0	18.0	1.0	120.0	39.0	1.0	32.0	1.0	1.0	8.0	1.0
1422	TGCAATATGAATATAATTTTAAA	4	43.9	14.5	4	80.7	3.9	4	40.5	8.8	4	24.0	16.3
1423	CTGCAATATGAATATAATTTTAA	3	48.0	17.6	3	88.7	9.5	3	38.3	13.2	3	10.7	4.9
1424	TGCAATATGAATATAATTTTA	1.0	40.0	5.0	1.0	79.0	13.0	1.0	33.0	5.0	1.0	15.0	0.0

10

20

【0591】

【表18-2】

1425	TCCTGCAATATGAATATAATTTT	4	39.0	5.1	4	95.8	9.8	4	40.6	14.9	4	12.0	2.9
1426	CTGCAATATGAATATAATTTT	4	45.5	9.3	4	85.2	6.5	4	39.4	16.7	4	12.6	3.2
1427	AGTCCTGCAATATGAATATAATT	3	39.7	9.0	3	76.0	18.2	3	42.3	5.7	3	13.3	5.0
1428	TCCTGCAATATGAATATAATT	4	43.0	14.0	4	91.5	18.6	4	42.8	14.2	4	10.0	2.1
1429	TTTCTCTCGAAGGTCTTCTGCCG	3	49.5	49.5	3	85.5	44.5	3	40.9	22.8	3	9.5	6.6
1430	CCTTTCTCTCGAAGGTCTTCTGCG	1.0	41.5	5.0	1.0	98.2	10.0	1.0	27.5	8.0	1.0	5.9	1.0
1431	CTTTCTCTCGAAGGTCTTCTGCC	4	32.6	17.9	4	83.3	37.7	4	40.6	27.1	4	12.6	9.7
1432	CTCTCGCACACACGCACACATGC	4	34.0	12.7	4	51.8	10.5	4	25.5	8.0	4	3.1	2.1
1433	CTCTCTCGCACACACGCACACAT	1.0	20.2	2.0	1.0	60.8	6.0	1.0	6.5	7.0	1.0	2.9	2.0
1434	TCTCTCGCACACACGCACACATG	8	43.3	16.6	8	77.5	19.8	8	18.3	8.0	8	2.7	2.1
1435	CTCTCGCACACACGCACACAT	1.0	33.0	32.0	1.0	83.4	25.0	1.0	22.6	9.0	1.0	3.7	2.0
1650	CT*C*TC*T*CGCACACACGCACACATGC	1.0	26.6	4.0	1.0	68.8	1.0	1.0	40.3	3.0	1.0	13.3	3.0
1651	TC*TC*TC*GCACACACGCACACATG	1.0	46.1	7.0	1.0	91.0	6.0	1.0	32.4	1.0	1.0	8.9	1.0
1652	TTTCTCTCGAAGGTCTTCTGCG	2	26.0	2.4	2	75.9	6.0	2	49.4	2.7	2	8.9	0.8
1653	AAAATCCAATTAAGAGAGAGTGA	1.0	15.0	2.0	1.0	19.0	2.0	1.0	49.0	3.0	1.0	29.0	5.0
1654	AAATCCAATTAAGAGAGAGTGAT	1.0	12.0	1.0	1.0	18.0	2.0	1.0	55.0	2.0	1.0	31.0	4.0
1655	TAAAAATCCAATTAAGAGAGAGT	1.0	32.0	4.0	1.0	42.0	6.0	1.0	37.0	5.0	1.0	24.0	5.0
1656	TTTAAAAATCCAATTAAGAGAGAGA	1.0	25.0	1.0	1.0	32.0	1.0	1.0	37.0	4.0	1.0	29.0	2.0
1657	TAAAAATCCAATTAAGAGAGAGAG	1.0	18.0	4.0	1.0	20.0	8.0	1.0	33.0	25.0	1.0	19.0	2.0
1658	TAAAAATCCAATTAAGAGAGAGA	3	21.7	7.5	3	52.0	29.1	3	60.0	29.0	3	42.0	18.1
1659	CC*T*T*CTCTCGAAGGTCTTCTGCCG	1.0	40.0	1.0	1.0	99.7	2.0	1.0	35.5	5.0	1.0	13.8	2.0
1660	GCACACATGCTCACACA*GA*GA*GC	1	40.8	4.0	1	85.1	6.0	1	12.9	2.0	1	3.4	0.0
1661	GC*A*CA*C*ATGCTCACACAGAGAGC	1	38.2	6.0	1	81.0	3.0	1	26.0	1.0	1	4.4	2.0

30

40

【0592】

参照による組み込み

本明細書において参照される特許文献および科学論文のそれぞれの開示の全体は、参照によりすべての目的のために組み込まれる。

50

【 0 5 9 3 】

均等論

本開示は、その必須の特徴から離れることなく他の特有の形態において具現化され得る。したがって、以上の実施形態は、本明細書に記載の開示に対する限定ではなく実例的なものとして考えられるべきである。本開示の範囲は、以上の記載によってではなく添付の請求項により指し示され、請求項の均等の意味および範囲内に入るすべての変更は本発明に包含されることが意図される。

【 図 面 】

【 図 1 】

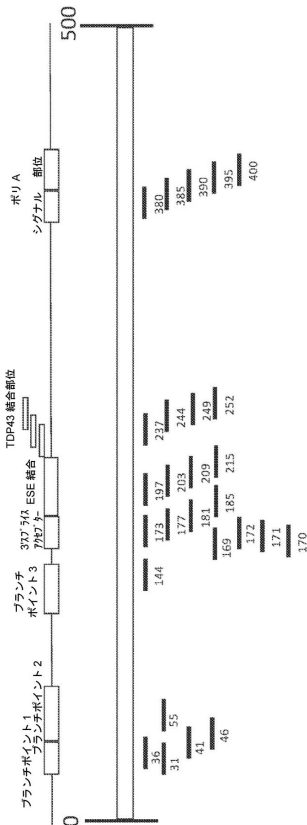


図 1

【 図 2 】

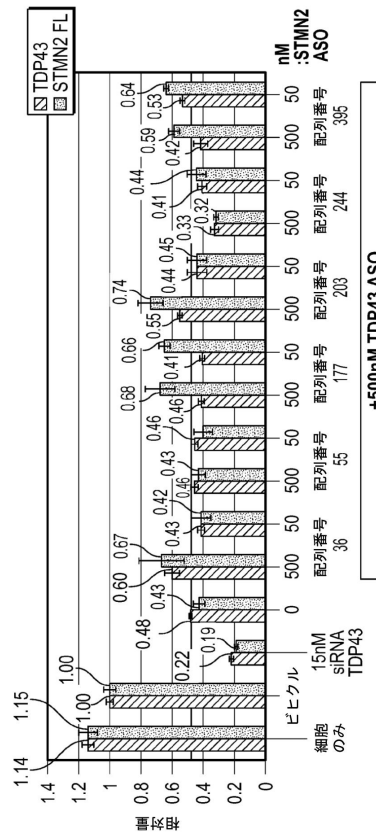


図 2

10

20

30

40

50

【図 3】

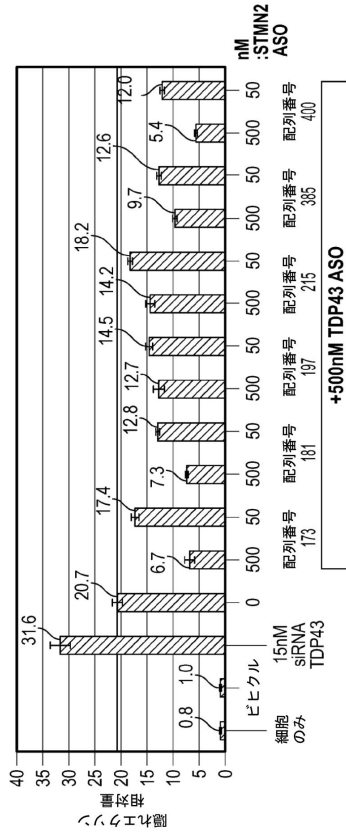


図 3

【図 4】

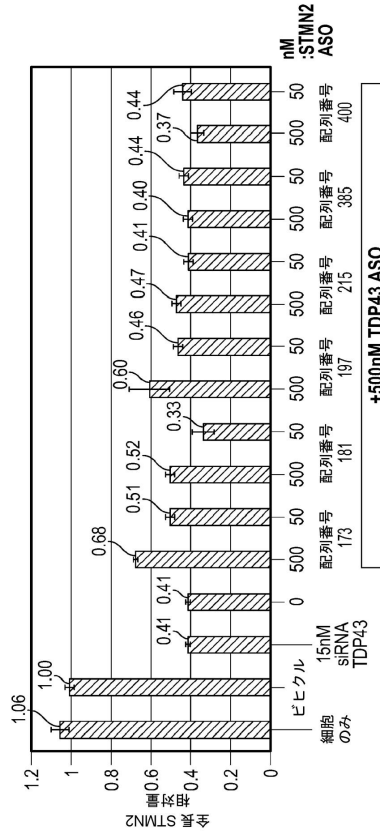


図 4

【図 5 A】

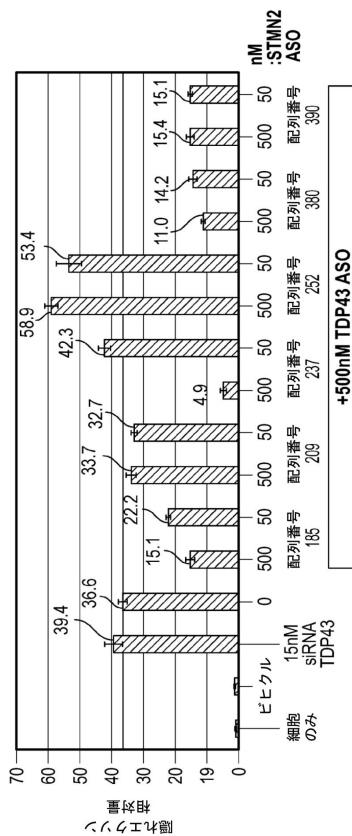


図 5A

【図 5 B】

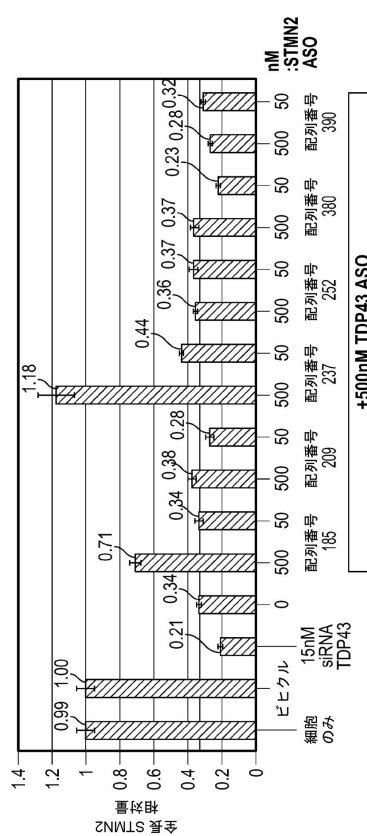


図 5B

10

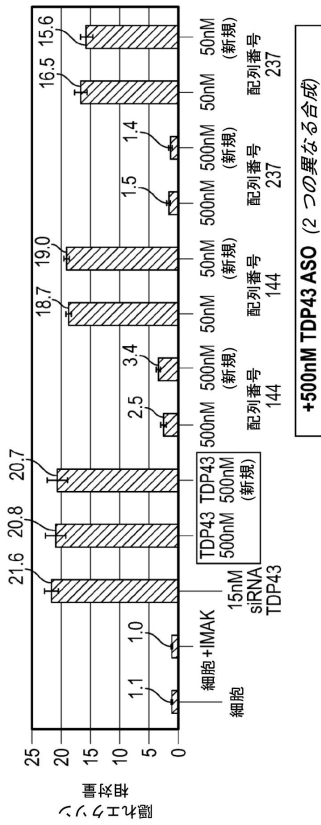
20

30

40

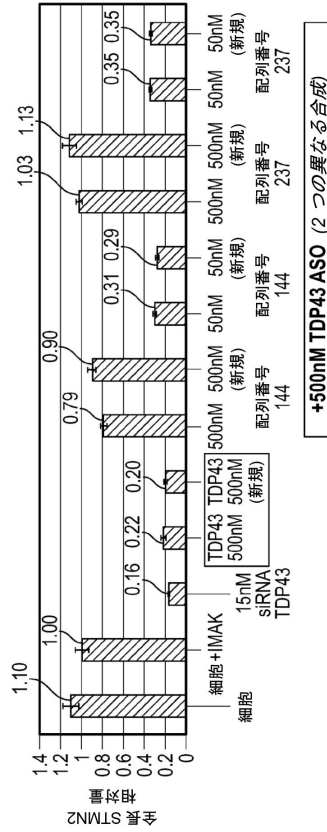
50

【図 6 A】



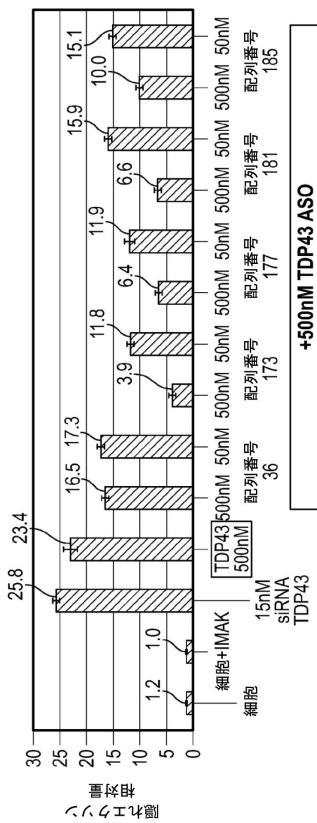
☒ 6A

【図 6 B】



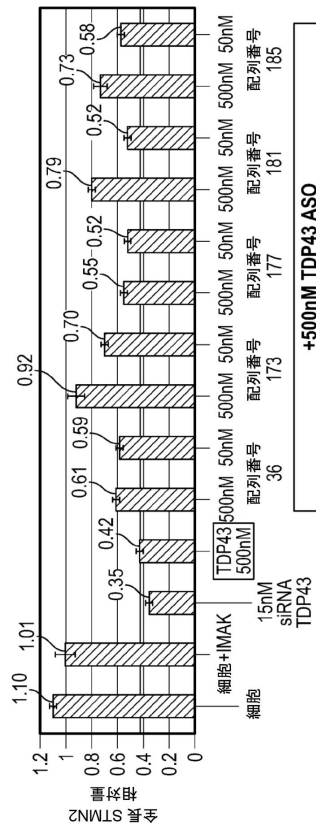
☒ 6B

【図 7 A】



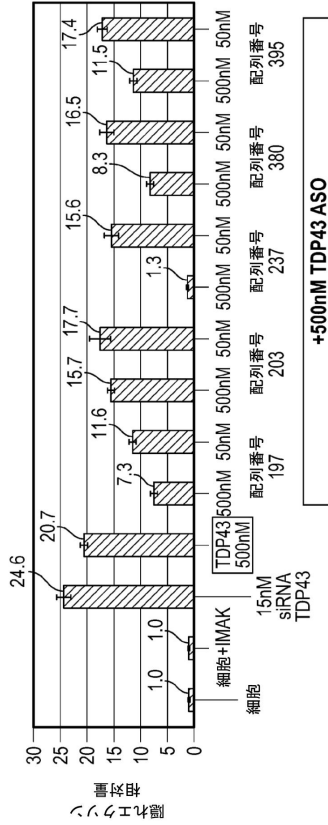
7A

【図 7 B】

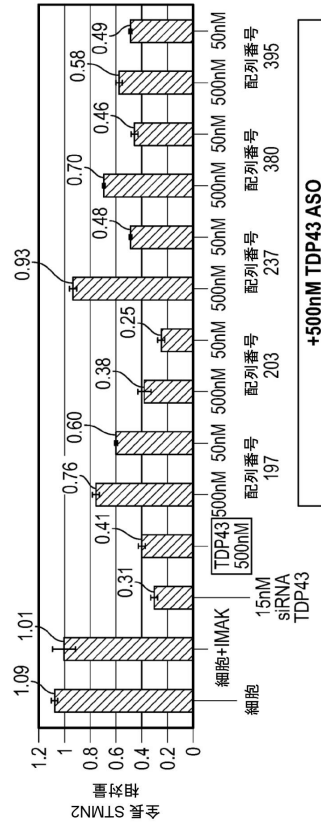


☒ 7B

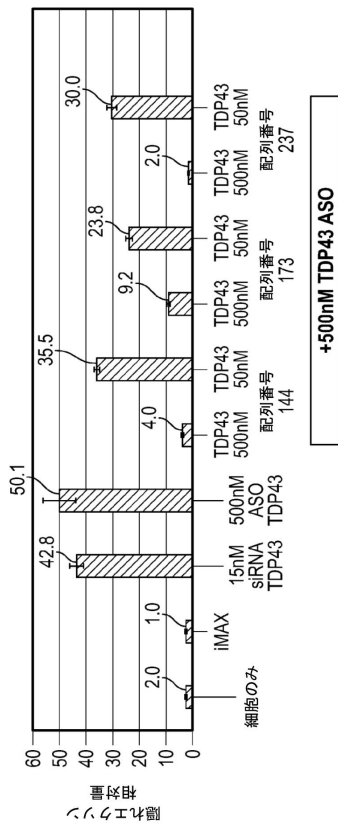
【図 8 A】



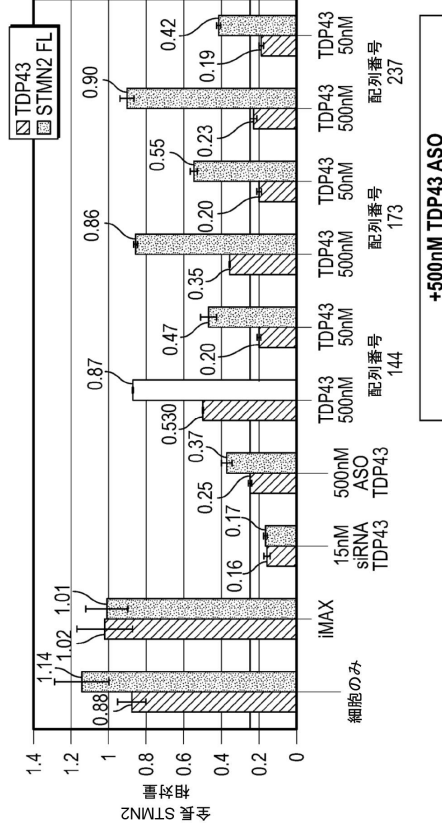
【図 8 B】



【図 9 A】



【図 9 B】



10

20

30

40

50

【図 10 A】

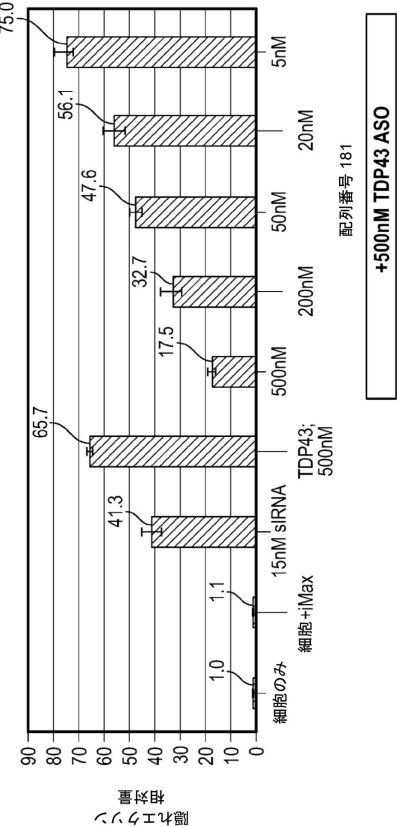


図 10A

【図 10 B】

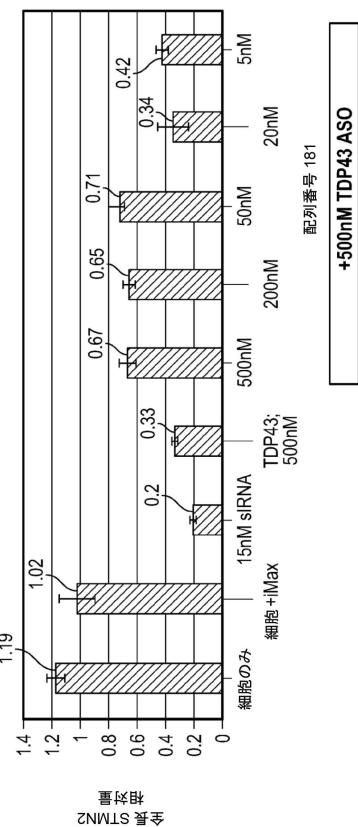


図 10B

【図 11 A】

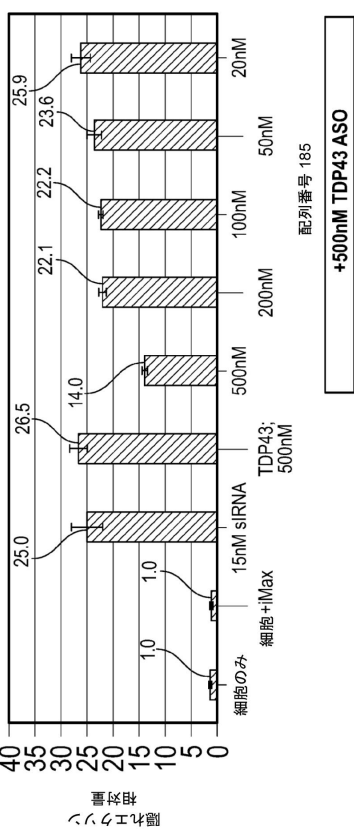


図 11A

【図 11 B】

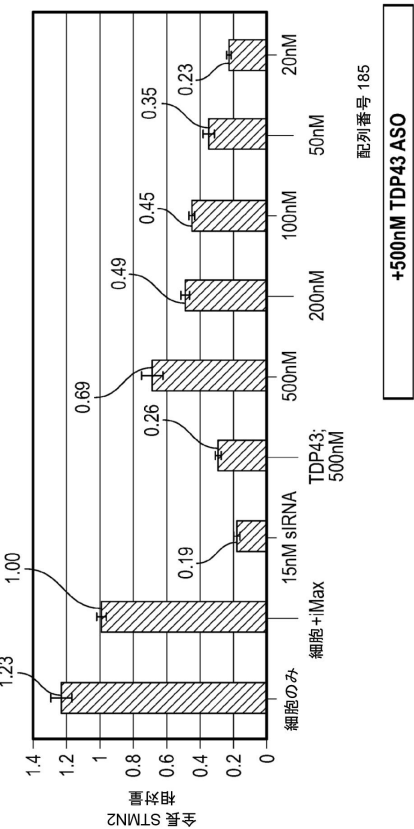


図 11B

10

20

30

40

50

【図 1 2 A】

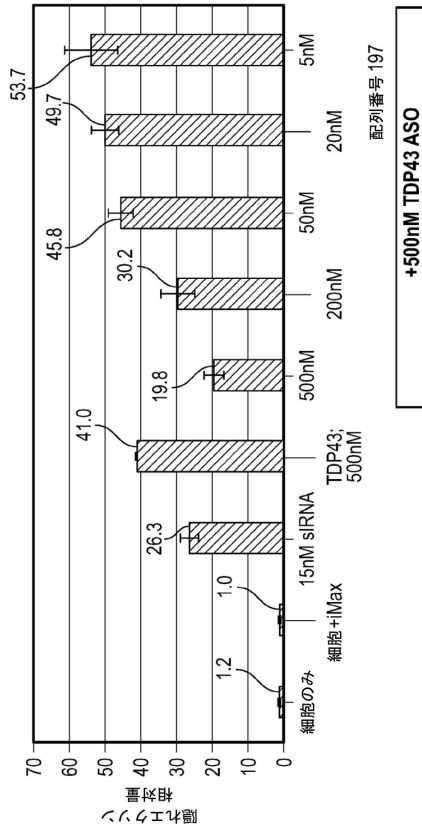


図 12A

【図 1 2 B】

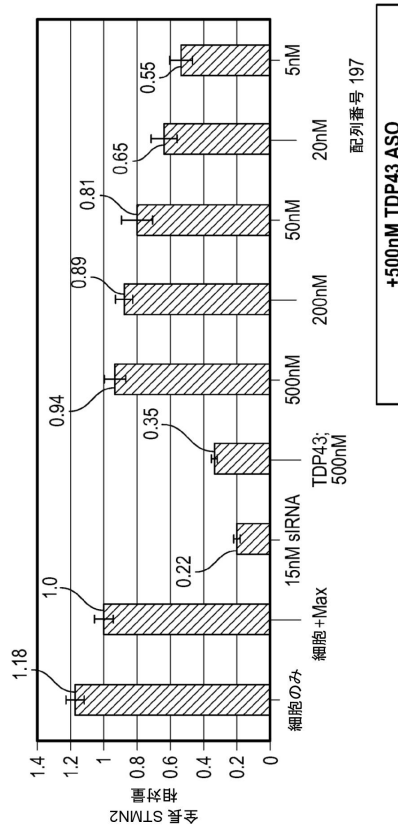


図 12B

【図 1 3 A】

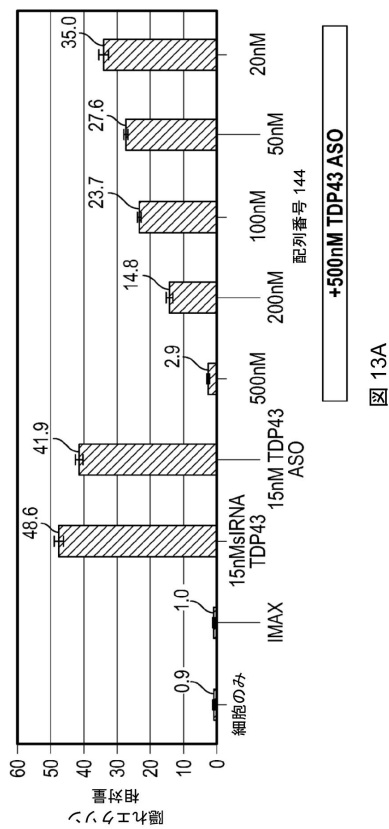


図 13A

【図 1 3 B】

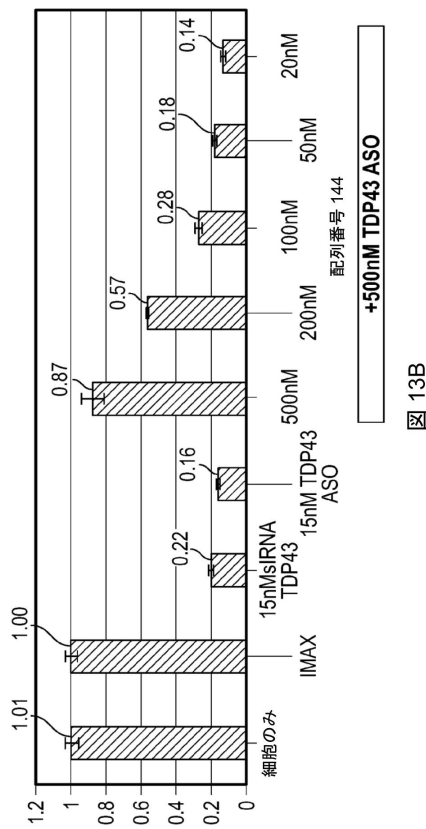


図 13B

10

20

30

40

50

【図 14 A】

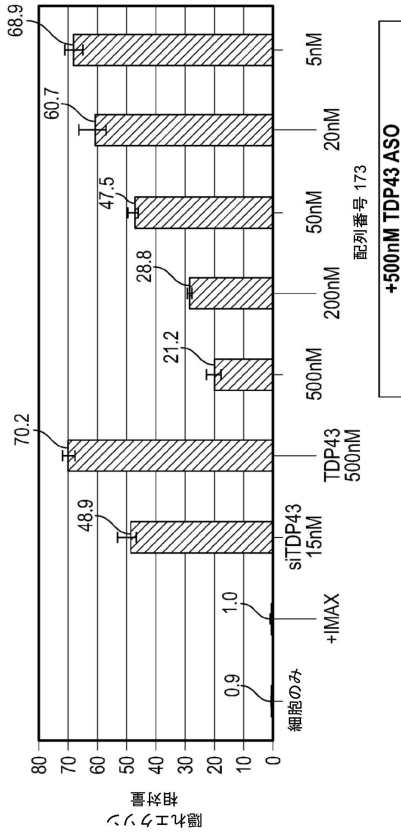


図 14A

【図 14 B】

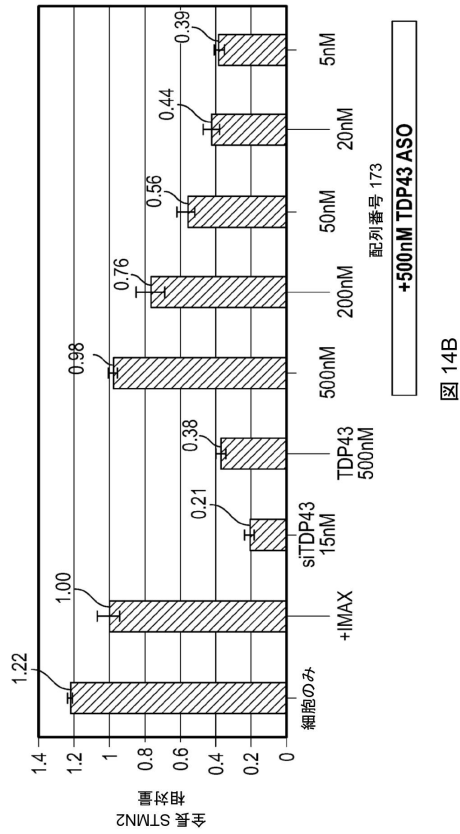


図 14B

【図 15 A】

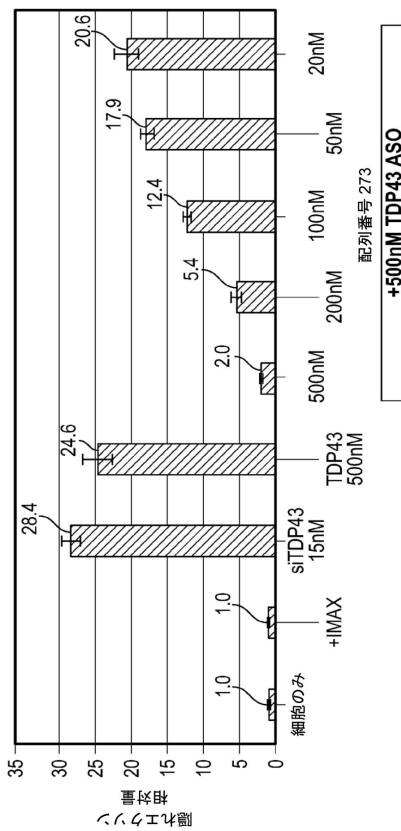


図 15A

【図 15 B】

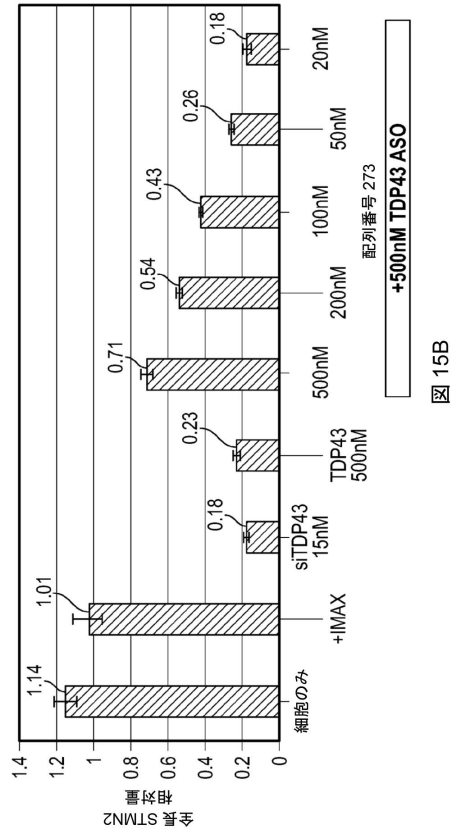


図 15B

10

20

30

40

50

【図 16】

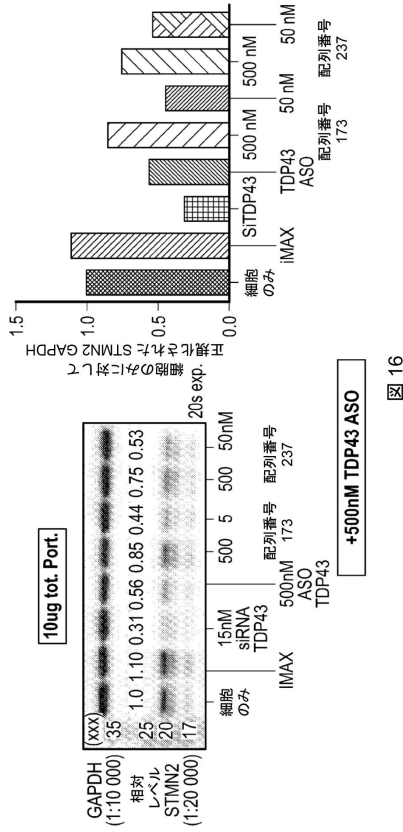


図 16

【図 17】

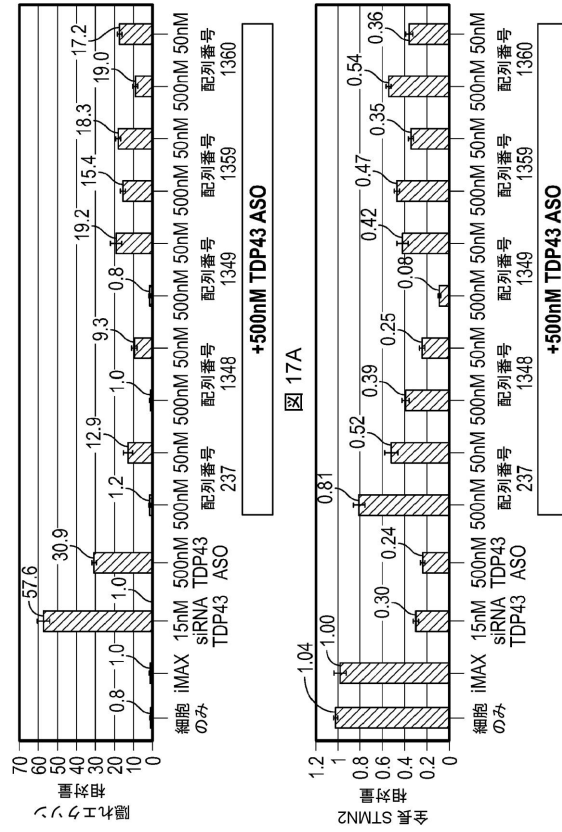


図 17A

図 17B

【図 18】

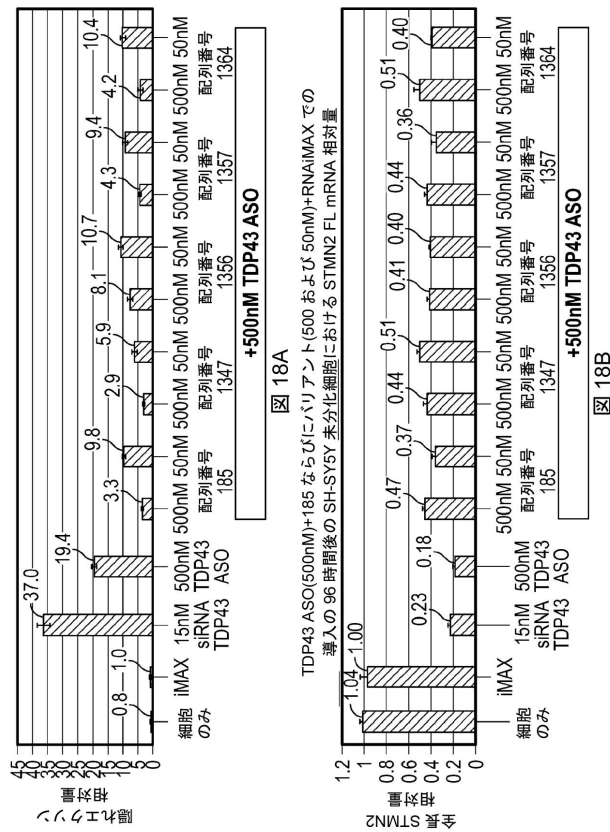


図 18A

図 18B

【図 19】

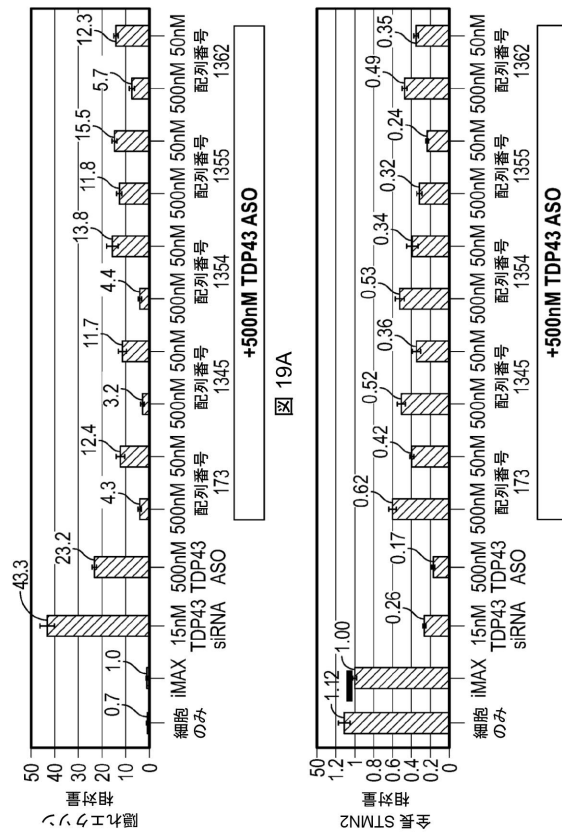


図 19A

図 19B

10

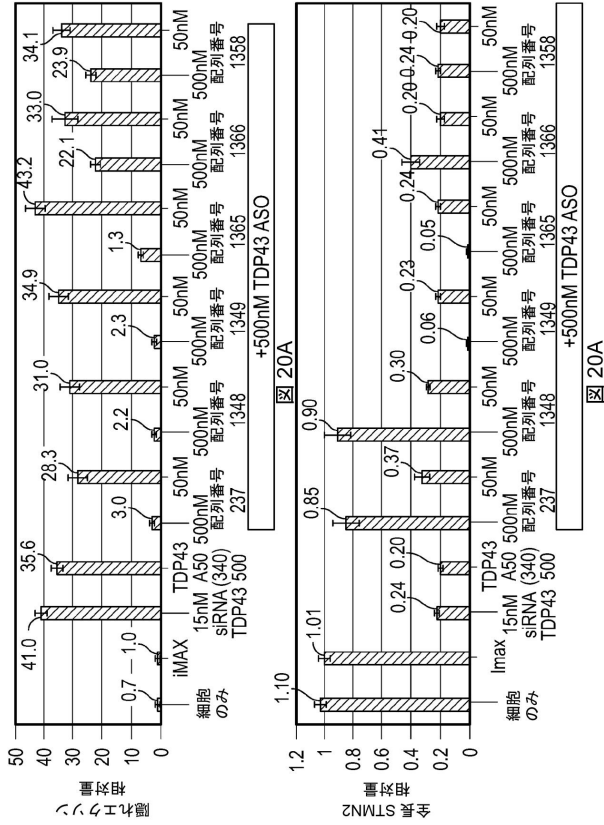
20

30

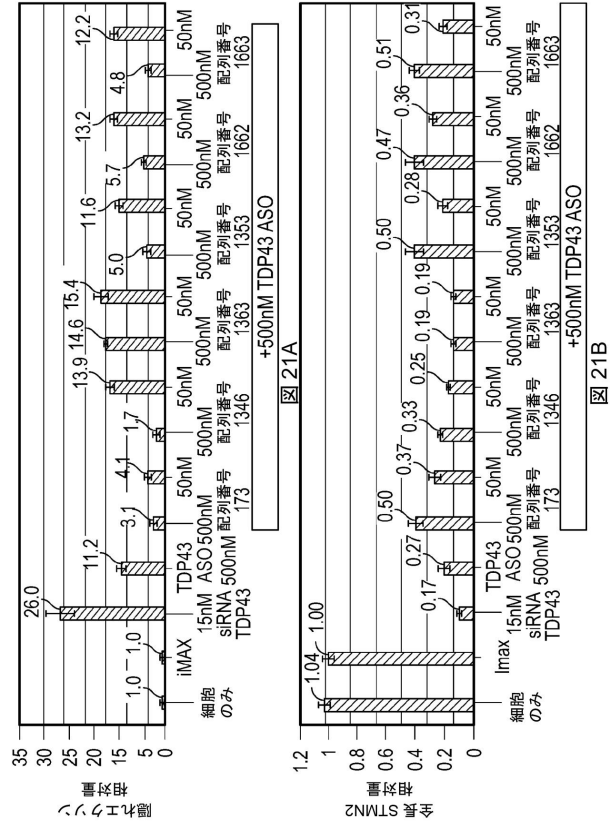
40

50

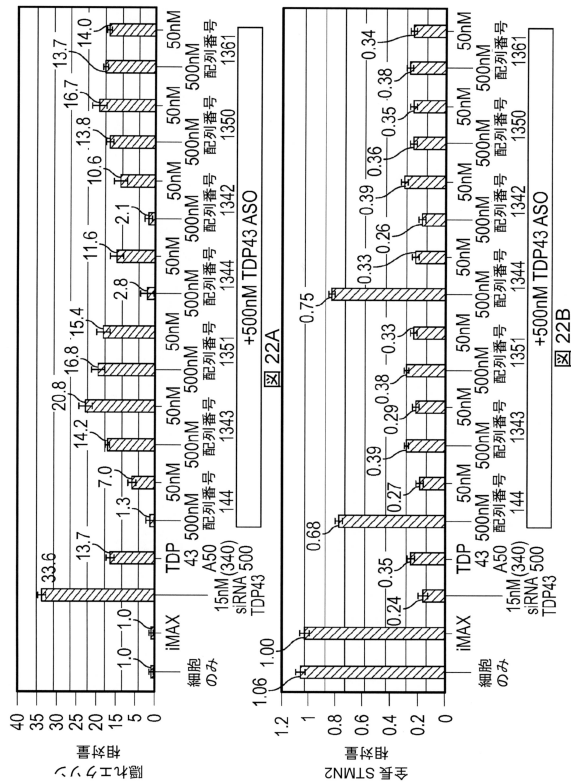
【図 20】



【図 21】



【図 22】



【図 23】

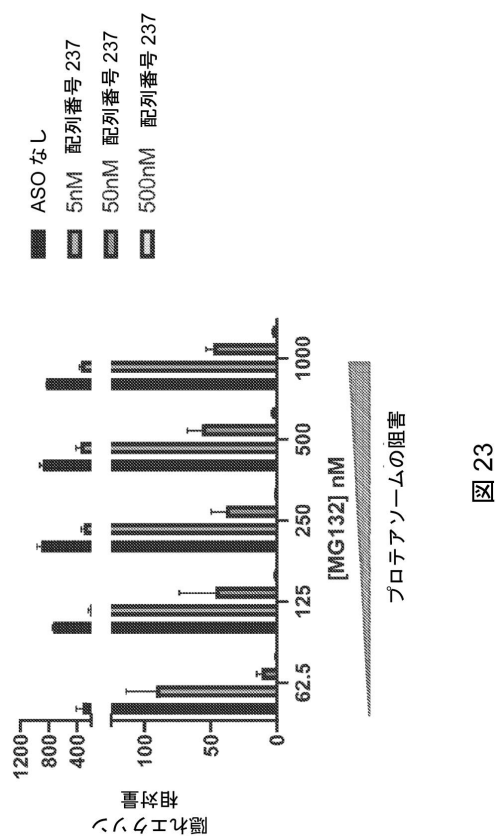


図 23

プロテアソームの阻害

10

20

30

40

50

【図 28 B】

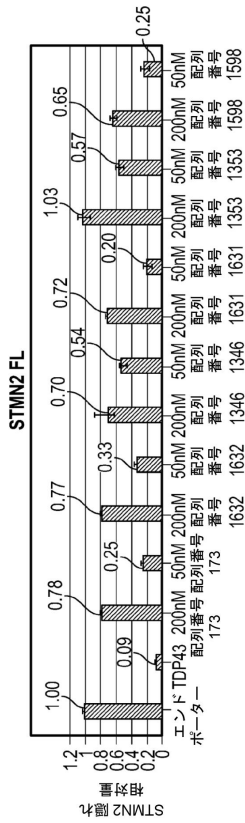


図 28B

【図 29 A】

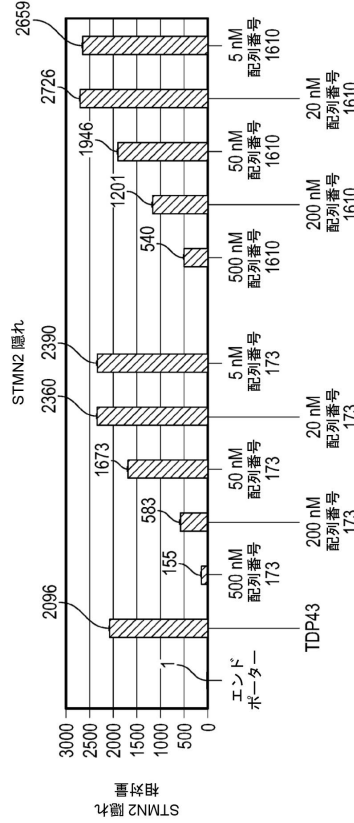


図 29A

【図 29 B】

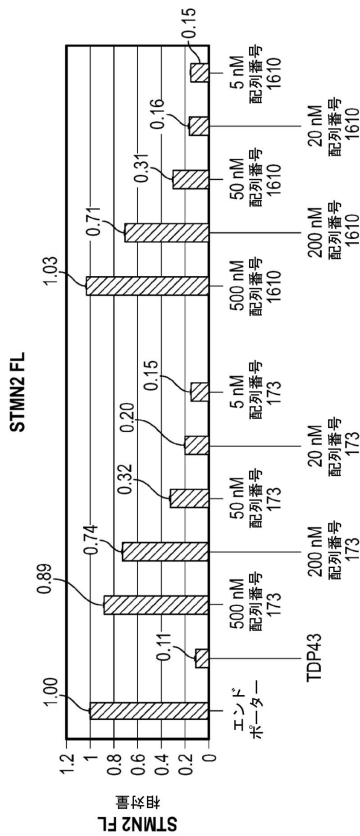


図 29B

【図 30 A】

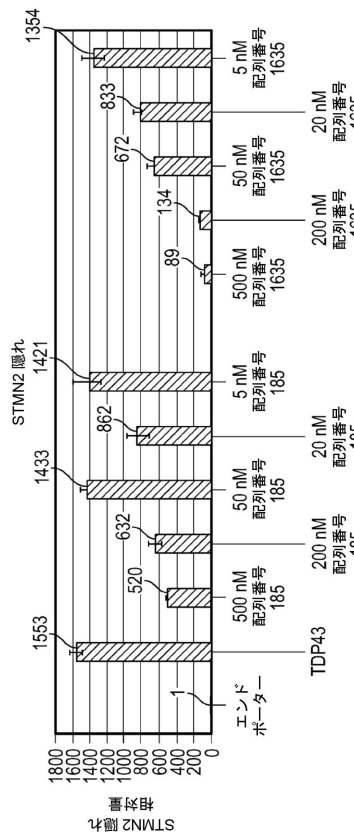


図 30A

10

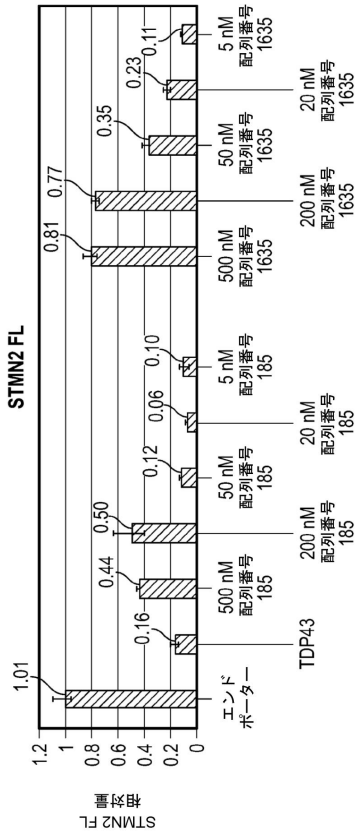
20

30

40

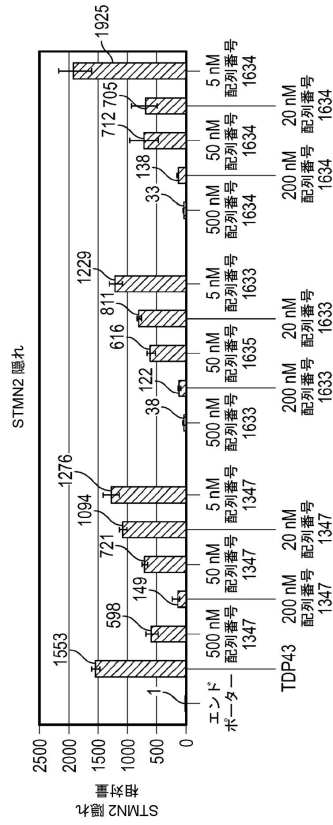
50

【図 30 B】



☒ 30B

【図 3 1 A】



31A

【図 3 1 B】

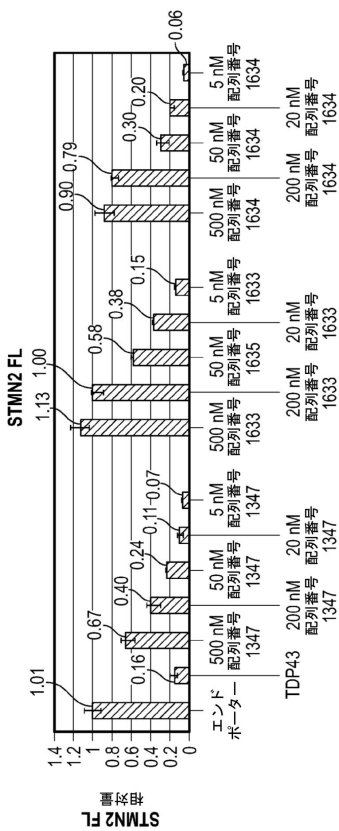
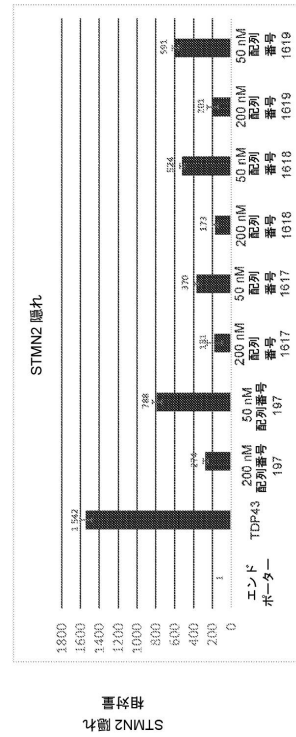
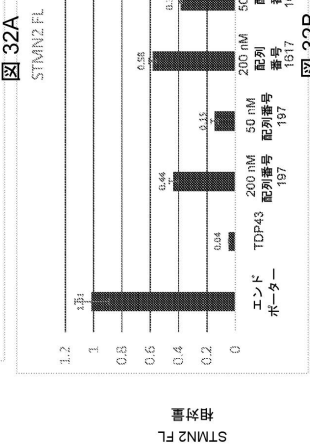


図 31B

【図 3 2】

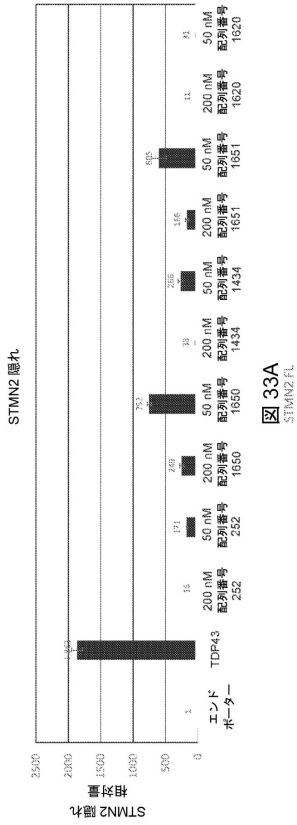


32A

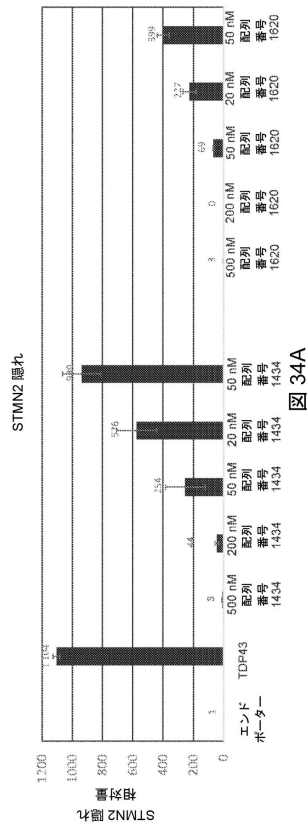


☒ 32B

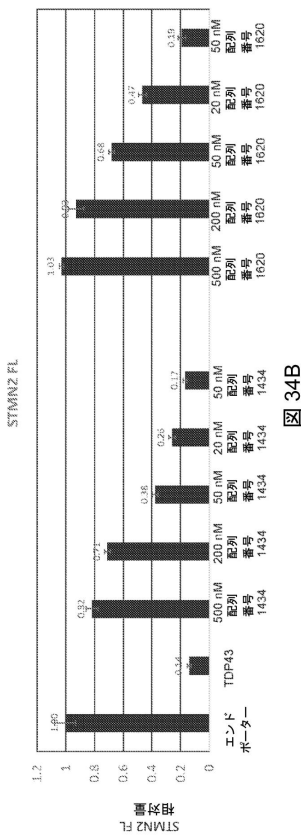
【圖 3 3】



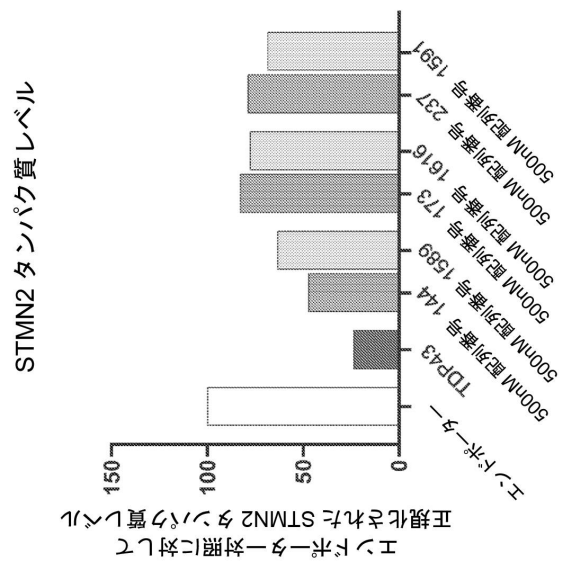
【図 3 4 A】



【圖 3 4 B】



【図 3 5】



35

【配列表】

2023528435000001.app

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 21/35603
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC - C12N 15/113, A61K 31/7115, A61K 31/7125, A61K 31/712 (2021.01) CPC - C12N 15/111, C12N 15/113, C12N 2310/11, C12N 2310/341, C12N 2310/321, A61K 31/712		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2019/241648 A1 (IONIS PHARMACEUTICALS, INC.) 19 December 2019 (19.12.2019) page 2, in 14-23; claim 3; claim 24; Table 3; SEQ ID NO: 1; SEQ ID NO: 176	1-3, 12-13, 17-18, 154
A		19-20, 81-84
Y	US 2011/0048200 A1 (HOWARD et al.) 24 February 2011 (24.02.2011) Abstract; para [0029]; para [0087]; para [0114]	1-3, 12-13, 17-18, 154
A		19-20, 81-84
A	US 2017/0044550 A1 (THE GENERAL HOSPITAL CORP) 16 February 2017 (16.02.2017) para [0017]; SEQ ID NO: 13576	19-20, 81-84
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 17 October 2021		Date of mailing of the international search report NOV 26 2021
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Kari Rodriguez Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/35603

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/35603

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 4-11, 21-80, 85-129, 146-147, 150-151, 155-197
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

-----continued on supplemental sheet-----

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-3, 12-13, 17-20, 81-84 and 154 limited to a modified oligonucleotide complementary to position 144-168 of SEQ ID NO: 1339 and SEQ ID NO: 144

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/35603

Continuation of Box III: Observations where unity of invention is lacking:

Group I+: Claims 1-3, 12-20, 81-84 and 154, drawn to a modified oligonucleotide complementary to STMN2 transcript comprising a non-natural linkage, and a spacer. The modified oligonucleotide will be searched to the extent that the modified oligonucleotide comprises a sequence that is complementary to an equal length portion of SEQ ID NO: 1339, wherein the oligonucleotide is complementary to an equal length portion within, positions 144-168 of SEQ ID NO: 1339 and the oligonucleotide comprises a sequence of SEQ ID NO: 144 (antisense oligonucleotide corresponding to positions 144-168 of SEQ ID NO: 1339). It is believed that claims 1-3, 12-13, 17-20, 81-84 and 154 encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that the modified oligonucleotide comprises a sequence that is complementary to an equal length portion of SEQ ID NO: 1339, wherein the oligonucleotide is complementary to an equal length portion within, positions 144-168 of SEQ ID NO: 1339 and the oligonucleotide comprises a sequence of SEQ ID NO: 144. Additional oligonucleotides will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected oligonucleotides. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. An exemplary election would be wherein the modified oligonucleotide comprises a sequence that is complementary to an equal length portion of SEQ ID NO: 1339, wherein the oligonucleotide is complementary to an equal length portion within, positions 173-197 of SEQ ID NO: 1339 and the oligonucleotide comprises a sequence of SEQ ID NO: 173 (antisense oligonucleotide corresponding to positions 173-197 of SEQ ID NO: 1339) (claims 1-3, 12, 14, 17-20, 81-84, 154).

Group II+: Claims 130-145, 148-149 and 152-153 directed to method for treating a neurological disease by administering to a modified oligonucleotide. Group II+ will be searched upon payment of additional fees. The method for treating a neurological disease by administering to a modified oligonucleotide, may be searched for an additional fee and election as such, for example, to the extent that oligonucleotide with SEQ ID NO: 1 (claims 130-145, 148-149 and 152-153). Additional oligonucleotides will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected cell or protein. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. Another exemplary election would be method for treating a neurological disease by administering to a modified oligonucleotide wherein the oligonucleotide with SEQ ID NO: 2 (claims 130-145, 148-149 and 152-153).

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

Special Technical Features

Group I+ requires a modified oligonucleotide, comprising at least one nucleoside linkage that is a non-natural linkage, and wherein the oligonucleotide comprises a spacer not required by Group II+.

Group II+ requires a method for treating a neurological disease, not required by Group I+.

Common Technical Features

The feature shared by Group I+ and Group II+ is oligonucleotide comprising a sequence that is complementary STMN2 transcript, wherein at least one nucleoside linkage is a non-natural linkage.

However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art, because the shared technical feature is taught by WO 2019/241648 A1 to Ionis Pharmaceuticals, Inc. (hereinafter 'Ionis').

Ionis discloses oligonucleotide comprising a sequence that is complementary STMN2 transcript (claim 1- "oligomeric compound, comprising a modified oligonucleotide consisting of 12 to 50 linked nucleosides wherein the nucleobase sequence of the modified oligonucleotide is at least 90% complementary to an equal length portion of a STMN2 nucleic acid"), wherein at least one nucleoside linkage is a non-natural linkage (claim 1- "a modified internucleoside linkage"; claim 7).

The features shared by the inventions listed as Group I+ are modified oligonucleotide comprising a sequence that is complementary to STMN2 transcript, wherein at least one nucleoside linkage of the oligonucleotide is a non-natural linkage, and further wherein the oligonucleotide comprises a spacer.

However, these shared technical features do not represent a contribution over prior art, because the shared technical features are taught by Ionis in view of US 2011/0046200 A1 to Howard et al. (hereinafter 'Howard').

-----continued on next sheet-----

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/35603

Continuation of previous sheet:

Ionis discloses (instant claim 1) a compound comprising a modified oligonucleotide (claim 1) comprising a sequence that is between 85 and 98% complementary to an equal length portion of SEQ ID NO: 1339, a sequence having 90% identity thereof, or to a 15 to 50 contiguous nucleobase portion thereof (claim 3- "oligomeric compound, comprising a modified oligonucleotide consisting of 12 to 50 linked nucleosides and having a nucleobase sequence comprising... at least 18 consecutive nucleobases complementary to: 8819-8841 of SEQ ID NO: 1"; nucleotides 8630 to 9099 has 100% sequence identity with SEQ ID NO: 1339), wherein at least one (i.e., one or more) nucleoside linkage of the oligonucleotide is a non-natural linkage (claim 24- "wherein the modified oligonucleotide consists of 20 linked nucleosides and has the following internucleoside motif: sooooooossssssoos; wherein, s = a phosphorothioate internucleoside linkage, and o = a phosphodiester internucleoside linkage") but does not teach further wherein the oligonucleotide comprises a spacer.

However, Ionis teaches that the disclosed compound can enhance activity or amount of STMN2 (page 2, in 14-23- "are compounds, methods, and pharmaceutical compositions for increasing the amount or activity of STMN2 RNA"). Howard discloses an antisense oligonucleotide (abstract) comprising spacer (para [0029]- "optimal distance between an antisense morpholino oligonucleotide and -1 frameshift site using different antisense morpholino oligonucleotides. Spacer length effect on morpholino induced frameshifting") wherein the antisense oligonucleotide can restore the mutated protein having frameshift in the exon (para [0114]- "The ability of an antisense oligonucleotide to treat Duchenne Muscular Dystrophy (DMD) is determined in vivo in a subject, for example a mammal, having the mutation Id number DMD_e53e60 in the Leiden DMD database available on the world wide web at DMD.n1. This mutation, characterized by the deletion of exons 53 through 60, results in a shift to the -1 reading frame after the translation of exon 52. Downstream of the deletion, in exon 61, a rare codon site (CGA G) exists in the -1 frame. By targeting this site with an antisense oligonucleotide to induce a +1 shift in reading frame, the proper reading frame for the remainder of the protein can be restored"). Since Howard teaches an antisense oligonucleotide comprising spacer which can be used to modulate the lengths of frameshifts (para [0087]- "The spacer length between frameshift sites and downstream stimulators in programmed -1 frameshifting is important for optimal frameshift stimulation... To determine the optimal spacer length between the shift site and the morpholino antisense"), it would have been obvious to one of ordinary skill in the art, to have combined the teachings of Ionis with Howard and optimized the antisense oligonucleotide disclosed by Ionis to have a spacer, to achieve a desired modulation of targeted protein activity, using routine experimentation.

The features shared by the inventions listed as Group II+ is a method for treating a neurological disease comprising administering an oligonucleotide comprising a segment with at most 7 linked nucleosides, and wherein oligonucleotide is complementary to STMN2 transcript.

However, these shared technical features do not represent a contribution over prior art, because the shared technical features are taught by Ionis.

Ionis discloses (instant claim 130) a method for treating a neurological disease in a subject in need thereof (claim 41; claim 47- "The method of claim 46, wherein the neurodegenerative disease is amyotrophic lateral sclerosis (ALS)"), the method comprising administering to the subject an oligonucleotide comprising a segment with linked nucleosides, and wherein oligonucleotide shares at least 85% identity with any one of SEQ ID NOs: 1-466 a pharmaceutically acceptable salt thereof (claim 3- "oligomeric compound, comprising a modified oligonucleotide consisting of 12 to 50 linked nucleosides and having a nucleobase sequence comprising...at least 11... consecutive nucleobases complementary to: 8819-8841 of SEQ ID NO: 1 or 100-122 of SEQ ID NO: 2; 8827-8851 of SEQ ID NO: 1 or 108-132 of SEQ ID NO: 2; 8836-8880 of SEQ ID NO: 1 or 117-161 of SEQ ID NO 2"; nucleotides 83-107 of SEQ ID NO: 2 has 100% sequence identity with positions 173-197 of SEQ ID NO: 1339; Note: [antisense oligonucleotide corresponding to positions 173-197 of SEQ ID NO: 1339 is SEQ ID NO: 173]); wherein at least one (i.e., one or more) nucleoside linkage of the oligonucleotide is independently selected from the group consisting of: a phosphodiester linkage, a phosphorothioate linkage (claim 24- "The oligomeric compound... wherein the modified oligonucleotide consists of 20 linked nucleosides and has the following internucleoside motif: sooooooossssssoos; wherein, s = a phosphorothioate internucleoside linkage, and o = a phosphodiester internucleoside linkage") the method comprising administering to the subject (claim 43) but does not teach that the oligonucleotide comprises a segment with at most 7 linked nucleosides.

However, Ionis teaches that the disclosed oligonucleotide has linked nucleosides (claim 1- "An oligomeric compound, comprising a modified oligonucleotide consisting of 12 to 50 linked nucleosides"). Therefore, it would have been obvious to one of ordinary skill in the art, to have used the teachings of Ionis and optimize the length of linked nucleosides to achieve a desired effectiveness, using routine experimentation.

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

Groups I+ and II+ therefore lack unity of invention under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

Item 4 (continued)

Claims 4-11, 21-80, 85-129, 146-147, 150-151 and 155-197 are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

NOTE:

As drafted, claims 83-84 depends from claims 81-82, "The compound of claim 81 or the oligonucleotide of claim 81 or 82". For the purposes of this application, claims 83-84 is construed as "the compound of claim 81 or the oligonucleotide of claim 82".

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 P	25/28	(2006.01)	A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	25/16	(2006.01)	A 6 1 P	25/16	
A 6 1 P	25/14	(2006.01)	A 6 1 P	25/14	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00	

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

(72)発明者 ヒンクリー, サンドラ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 1 7 7 6, サドベリー, ホームステッド ストリート 4

F ターム (参考) 4C084 AA19 NA05 ZA011 ZA012 ZA052 ZA062 ZA151 ZA161 ZA182 ZA201
ZA221 ZA941 ZC202 ZC751
4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA01 MA04 MA52 MA55 MA59 MA60
MA63 MA65 NA14 ZA01 ZA15 ZA16 ZA20 ZA22 ZA94 ZC75