明　細　書

発明の名称 ：

ＤＵＸ４の発現を調節するための化合物、方法及び医薬組成物

技術分野

[0001] 本発明は、動物におけるＤＵＸ４　ｍＲＮＡおよび蛋白質の発現を低減するための化合物、該化合物を用いる方法、および該化合物を含有する医薬組成物に関する。本発明の方法は、ＤＵＸ４関連疾患、例えば、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー（ｆａｃｉｏｓｃａｐｕｌｏｈｕｍｅｒａｌ　ｍｕｓｃｕｌａｒ　ｄｙｓｔｒｏｐｈｙ：　ＦＳＨＤ）を治療し、予防し、または軽減するために有用である。

背景技術

[0002] 顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー（ＦＳＨＤ）は、全世界で２０，０００分の１、欧州では７，５００分の１の概算頻度で発症する筋ジストロフィーであり、筋ジストロフィーの中で、デュシェンヌ型筋ジストロフィー、筋強直性ジストロフィーに次いで３番目に多い疾患である。初発症状は、顔面や上肢・肩甲部・上肢帯の筋力低下で、進行とともに下肢帯、下肢にも障害が及び、約２０％の症例で４０歳までに車椅子生活となる（壮年期になっても軽度の顔面筋罹患のみの場合もある）。疼痛や神経性難聴および網膜症の合併も多い。約９割の患者は、２０歳までに発症する。重症患者（約４％）では乳児期から筋力低下を示す。

[0003] ＦＳＨＤは原因遺伝子により、ＦＳＨＤ１とＦＳＨＤ２という２つの型に分類される。ＦＳＨＤ１型は、ＦＳＨＤ患者全体の約９５％を占める。ＦＳＨＤ１型患者では、４ｑ３５のＤ４Ｚ４リピート領域が遺伝的に短縮しており（１～１０個のＤ４Ｚ４リピート）、これによりＤ４Ｚ４リピート領域にコードされているＤＵＸ４の異常発現が起こる（健常人ではＤＵＸ４は発現しない）。ＦＳＨＤ２型は、ＦＳＨＤ患者全体の約５％で、ＳＭＣＨＤ１（ＤＮＡメチル化酵素）変異によりＤＵＸ４の異常発現が起こる。ＤＵＸ４は

転写因子様の機能を持ち、下流にコードされる筋細胞のアポトーシスや筋萎縮を引き起こす遺伝子群を発現させる。ＤＵＸ４の異常発現は４ｑＡと４ｑＢの２つの対立遺伝子のうち、４ｑＡといわれる対立遺伝子を保有することによる。４ｑＡに存在するポリアデニレーションサイトがＤＵＸ４　ｍＲＮＡの安定化に必要である（非特許文献１、非特許文献２、非特許文献３）。

[0004] アンチセンス技術は、ある種の遺伝子産物の発現を調節するための有効な手段として明らかになりつつあり、したがって、ＤＵＸ４を調節するための、いくつかの治療的、診断的、及び研究的適用に比類なく有用であることが判明する可能性がある。

[0005] ＤＵＸ４　ｍｉＲＮＡ をコードするアデノ随伴ウイルスを用いて、ＤＵＸ４遺伝子の発現を抑制する方法が報告されている（特許文献１）が、該アデノ随伴ウイルスを調製するのは煩雑であり、また必要とされる全身の筋肉へ送達することは困難である。

[0006] ＤＵＸ４　ｓｈＲＮＡをコードするレンチウイルスを用いて、ＤＵＸ４遺伝子の発現を抑制する方法が報告されている（非特許文献２）が、該レンチウイルスを調製するのは煩雑であり、また必要とされる全身の筋肉へ送達することは困難である。さらに、四頭筋や僧帽筋細胞でのｉｎｖｉｔｒｏでの遺伝子抑制作用は２１％、４４％の残存活性があり、十分な効果とはいえない。

[0007] 複数のＤＵＸ４に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを連結した化合物が報告されている（特許文献２）が、修飾オリゴヌクレオチドではなく、またその阻害効果は十分とはいえない。

[0008] ＤＵＸ４　ｍＲＮＡのスプライシング部位に結合するアンチセンスオリゴヌクレオチド化合物が報告されている（特許文献３）が、これらの化合物はイントロンを含むプレｍＲＮＡ選択的であるため成熟ｍＲＮＡに対しては阻害効果が弱く、またＬｉｐｏｆｅｃｔｉｏｎ法によるノックダウンのため、生体へ投与することは困難である。

[0009] 現在行われているＦＳＨＤ治療法としては、対症療法としてのリハビリテ

ーション（ストレッチや運動）、ＮＳＡＩＤｓの投与、呼吸ケアなどであるが、効果は不十分で患者の負担は大きい。したがって、ＦＳＨＤを処置するための化合物、組成物および方法を提供することが、本明細書における目的である。

先行技術文献

特許文献

[0010] 特許文献1：国際公開第２０１３／０１６３５２号

特許文献2：国際公開第２０１７／００７８８６号

特許文献3：米国公開第２０１２／０２２５０３４号

非特許文献

[0011] 非特許文献1：Ｓｎｉｄｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，ＰＬｏＳ　２０１０，Ｖｏｌ．６（１０）　ｐ１

非特許文献2：Ｆｅｒｒｅｂｏｅｕｆ　ｅｔ　ａｌ．，ＨｕｍａｎＭｏｌｅｃｕｌａｒ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ　２０１３，Ｖｏｌ．２３（１），ｐ１７１

非特許文献3：Ｓａｃｃｏｎｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｉｍ.Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ　２０１５，ｐ６０７

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0012] 本発明の課題は、ＤＵＸ４の発現を阻害するための、並びにＤＵＸ４関連疾患および／またはその症状を処置する、つまり、治療する、予防する、遅延させる、または改善させるための、化合物、方法、及び医薬組成物を提供することにある。本明細書に開示される化合物及び医薬組成物は、ＳＮＰなどの変異型ＤＵＸ４やＤＵＸ４のスプライシングバリアントをも阻害する。

課題を解決するための手段

[0013] ある種の実施態様は、動物（ヒトを含む）においてＤＵＸ４の発現を低減させる方法であって、本明細書に記載される、ＤＵＸ４を標的とする修飾オリゴヌクレオチドを含有する化合物、または当該化合物を含有する医薬組成

物を動物に投与することを含む方法を提供する。

[0014] ある種の実施態様は、ＤＵＸ４を標的とする修飾オリゴヌクレオチドを含有する化合物または医薬組成物を動物に投与して、核内リボヌクレアーゼ（ＲＮａｓｅ Ｈなど）を介するノックダウンする方法を提供する。また、当該修飾オリゴヌクレオチドを含有する化合物を投与して、ＤＵＸ４ ｍＲＮＡの転写やＤＵＸ４蛋白質の翻訳を阻害する方法を提供する。修飾オリゴヌクレオチドは筋肉に分布するのが好ましく、特に骨格筋に分布するのが好ましい。

[0015] ある種の実施態様は、ＦＳＨＤを有する動物を処置する方法を提供する。ある種の実施態様では、本発明の方法は、さらに本明細書に記載される、ＤＵＸ４を標的とする修飾オリゴヌクレオチドを含む、治療有効量の化合物または医薬組成物を動物に投与することを含む。ある種の実施態様では、本発明の方法は、ＦＳＨＤ１および／またはＦＳＨＤ２を有する動物を特定することを含む。

[0016] ある種の実施態様は、筋萎縮・筋力低下を処置する、つまり、治療する、予防する、遅延させる、または改善させる方法を提供する。顔面頬部、肩、上腕部の筋力低下による、表情が乏しい／目を開けたまま寝る／上肢の挙上困難／翼状肩甲を緩和または悪化を遅延させることである。また、腰帯，下肢の筋力低下を防止し、更に、神経性難聴および網膜症の合併を防ぐことが好ましい。

[0017] ある種の実施態様では、ＤＵＸ４ ｍＲＮＡは、ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＭ＿００１２９３７９８．２に記載の配列（配列表の配列番号１として本明細書に組み込まれる）を有する。配列表の配列番号１のＤＵＸ４ ｍＲＮＡのスプライシングバリアントは、ＤＵＸ４－ＦＬ１またはＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡともいう。ある種の実施態様では、ＤＵＸ４ ｍＲＮＡは、ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＭ＿００１３０６０６８．２に記載の配列（配列表の配列番号５として本明細書に組み込まれる）を有する。配列表の配列番号５のＤＵＸ４ ｍＲＮＡのスプライシングバリアントは、ＤＵＸ４－ＦＬ２とも

いう。ある種の実施態様では、ＤＵＸ４は、ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＭ＿００１３６３８２０．１に記載の配列（配列表の配列番号６として本明細書に組み込まれる）を有する。配列表の配列番号６のＤＵＸ４　ｍＲＮＡのスプライシングバリアントは、ＤＵＸ４－ｓともいう。ある種の実施態様では、ＤＵＸ４は、上記スプライシングバリアントのＳＮＰをいう。

[0018] 本開示は、以下の項［１］～［２７］に記載の非限定な番号付けされた実施態様に関するものであるが、これらに限定されない。

[0019] 項［１］　１２～３０残基からなる修飾オリゴヌクレオチドであって、

少なくとも８個の連続する核酸塩基配列であって、配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基配列の５’末端から１２６～１４７位、２３２～２４８位、１３０６～１３２５位または１４８０～１４９５位におけるその等長部分に相補的である核酸塩基配列を含み、

前記修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基配列におけるその等長部分に少なくとも９０％相補性を有し、

前記少なくとも８個の連続する核酸塩基配列が配列番号１の核酸塩基配列の５’末端から１４８０～１４９５位におけるその等長部分に相補的である核酸塩基配列を含む場合は、前記修飾オリゴヌクレオチドは配列番号１の核酸塩基の５’末端から１４８０位の塩基の相補塩基を３’末端に有する核酸塩基配列からなる、

修飾オリゴヌクレオチド。

[0020] 項［２］　前記修飾オリゴヌクレオチドのうち１つ以上の修飾ヌクレオチドが修飾糖を含む、項［１］に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

項［３］　前記修飾糖が、二環式糖、２’－Ｏ－メトキシエチルで修飾された糖、および２’－Ｏ－メチルで修飾された糖からなる群から選択される、項［２］に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

項［４］　前記二環式糖が、ＬＮＡ、ＧｕＮＡ、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］、ＡＬＮＡ［ｍＵ］、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］、ＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］、およびＡＬＮＡ［

Ｔｒｚ］からなる群から選択される、項［３］に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

[0021] 項［５］　１２～３０残基からなる修飾オリゴヌクレオチドであって、

少なくとも８個の連続する核酸塩基配列であって、配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基配列の５’末端から１４７２～１４９５位におけるその等長部分に相補的である核酸塩基配列を含み、

前記修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基配列におけるその等長部分に少なくとも９０％相補性を有し、

前記修飾オリゴヌクレオチドがＧｕＮＡ、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］、ＡＬＮＡ［ｍＵ］、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］、ＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］、およびＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］から選択される修飾糖を含むヌクレオシドを少なくとも１つ含む、

修飾オリゴヌクレオチド。

[0022] 項［６］　前記修飾オリゴヌクレオチドがさらに、２’－Ｏ－メトキシエチルで修飾された糖、および／または２’－Ｏ－メチルで修飾された糖を含む、項［５］に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

[0023] 項［７］　前記修飾オリゴヌクレオチドのうち少なくとも１つの修飾ヌクレオチドが修飾核酸塩基を含む、請求項１～６のいずれか１項に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

項［８］　前記修飾核酸塩基が５－メチルシトシンである、項［７］に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

[0024] 項［９］　少なくとも１つのヌクレオシド間結合が修飾ヌクレオシド間結合である、項［１］～［８］のいずれか１項に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

項［１０］　前記修飾ヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、項［９］に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

[0025] 項［１１］　前記修飾オリゴヌクレオチドが、

１）ギャップセグメントと、

２）５’ウイングセグメントと、

３）３’ウイングセグメント、を含み、

前記ギャップセグメントが、前記５’ウイングセグメントと前記３’ウイングセグメントとの間に位置付けられ、

前記５’ウイングセグメントと３’ウイングセグメントのヌクレオシドのいずれもが、少なくとも１つの修飾糖を含み、

前記ギャップセグメントのヌクレオシドは、修飾糖を含まないヌクレオシドのみであるか、または、修飾糖を含む１または２個のヌクレオシドを含み、それ以外は修飾糖を含まないヌクレオシドである、項［１］～［１０］のいずれか１項に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

[0026] 項［１２］　前記修飾オリゴヌクレオチドが、

配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基配列の

５’末端から１２８～１４３位の核酸塩基配列、

５’末端から２３２～２４７位の核酸塩基配列、

５’末端から２３３～２４８位の核酸塩基配列、

５’末端から１３０９～１３２３位の核酸塩基配列、または

５’末端から１４８０～１４９５位の核酸塩基配列、

に相補的な核酸塩基配列からなる、項［１］～［１１］のいずれか一項に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

[0027] 項［１３］　前記修飾オリゴヌクレオチドが、

gtggcgatgc ccgggt（配列番号７５）、

gagattcccg cnggtg（配列番号７８：nは５－メチルシトシンを示す）、

ngagattcccgccggt（配列番号２：nは５－メチルシトシンを示す）、

gnagttctccgcggt（配列番号３：nは５－メチルシトシンを示す）、または

gnntagacagcgtngg（配列番号４：nは５－メチルシトシンを示す）

の塩基配列からなる、項［１］～［１２］のいずれか一項に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

[0028] 項［１４］　下式：

GlsMlsMlsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMlsGlsGl；

で示される項［１３］に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

式中、

各核酸塩基が下記記号：

Ａ＝アデニン、Ｔ＝チミン、Ｇ＝グアニン、Ｃ＝シトシン、M＝５－メチルシトシン、

に従って示され；

各糖部分が下記記号：

Ｉ＝ＬＮＡ、ｄ＝２’－デオキシリボース、

に従って示され；

各ヌクレオシド間結合が下記記号：

ｓ＝ホスホロチオエートに従って示される。

[0029] 項［１５］　下式：

GmsMmsMmsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMmsGmsGm；

で示される項［１３］に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

式中、

各核酸塩基が下記記号：

Ａ＝アデニン、Ｔ＝チミン、Ｇ＝グアニン、Ｃ＝シトシン、M＝５－メチルシトシン、

に従って示され；

各糖部分が下記記号：

ｍ＝ＡＬＮＡ［Ｍｓ］、ｄ＝２’－デオキシリボース、

に従って示され；

各ヌクレオシド間結合が下記記号：

ｓ＝ホスホロチオエートに従って示される。

[0030] 項［１６］　下式：

GmsMmsAmsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsCdsGmsGmsTm；

で示される項［１３］に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

式中、

各核酸塩基が下記記号：

Ａ＝アデニン、Ｔ＝チミン、Ｇ＝グアニン、Ｃ＝シトシン、Ｍ＝５－メチルシトシン、に従って示され；

各糖部分が下記記号：

ｍ＝ＡＬＮＡ［Ｍｓ］、ｄ＝２’－デオキシリボース、

に従って示され；

各ヌクレオシド間結合が下記記号：

ｓ＝ホスホロチオエート

に従って示される。

[0031] 項［１７］　下式：

MlsGlsAlsGdsAdsTdsTdsCdsCdsCdsGdsCdsCdsGlsGlsTl；

で示される項［１３］に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

式中、

各核酸塩基が下記記号：

Ａ＝アデニン、Ｔ＝チミン、Ｇ＝グアニン、Ｃ＝シトシン、Ｍ＝５－メチルシトシン、

に従って示され；

各糖部分が下記記号：

Ｉ＝ＬＮＡ、ｄ＝２’－デオキシリボース、

に従って示され；

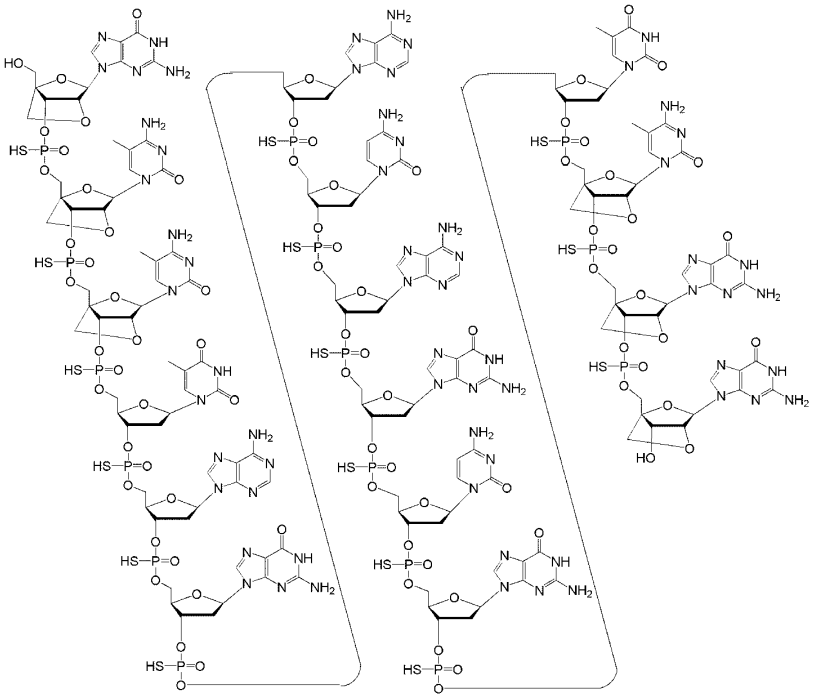
各ヌクレオシド間結合が下記記号：

ｓ＝ホスホロチオエート

に従って示される。

[0032] 項［１８］　下式：

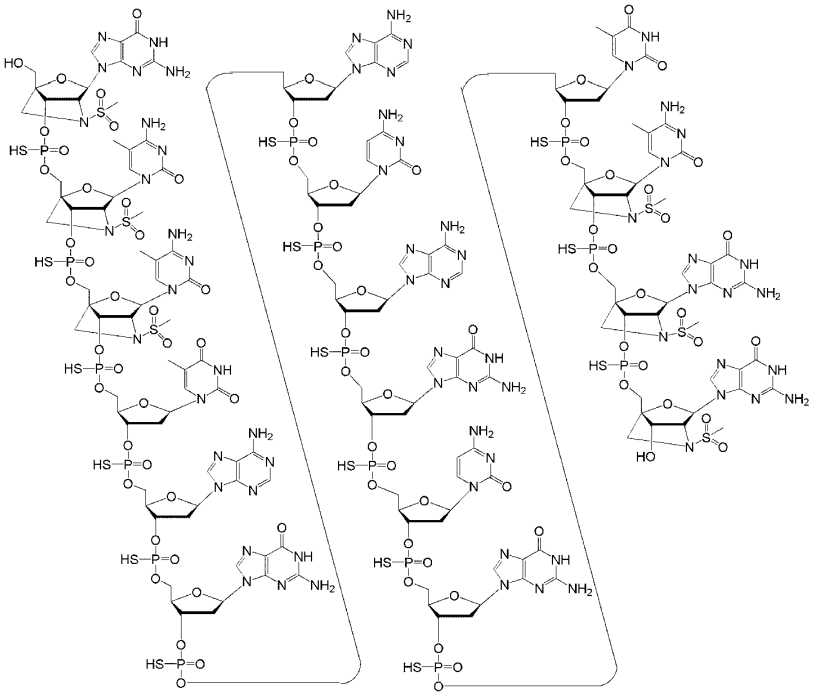
[化1]



によって示される、項［１４］に記載の修飾オリゴヌクレオチドまたはその塩。

[0033] 項［１９］　下式：

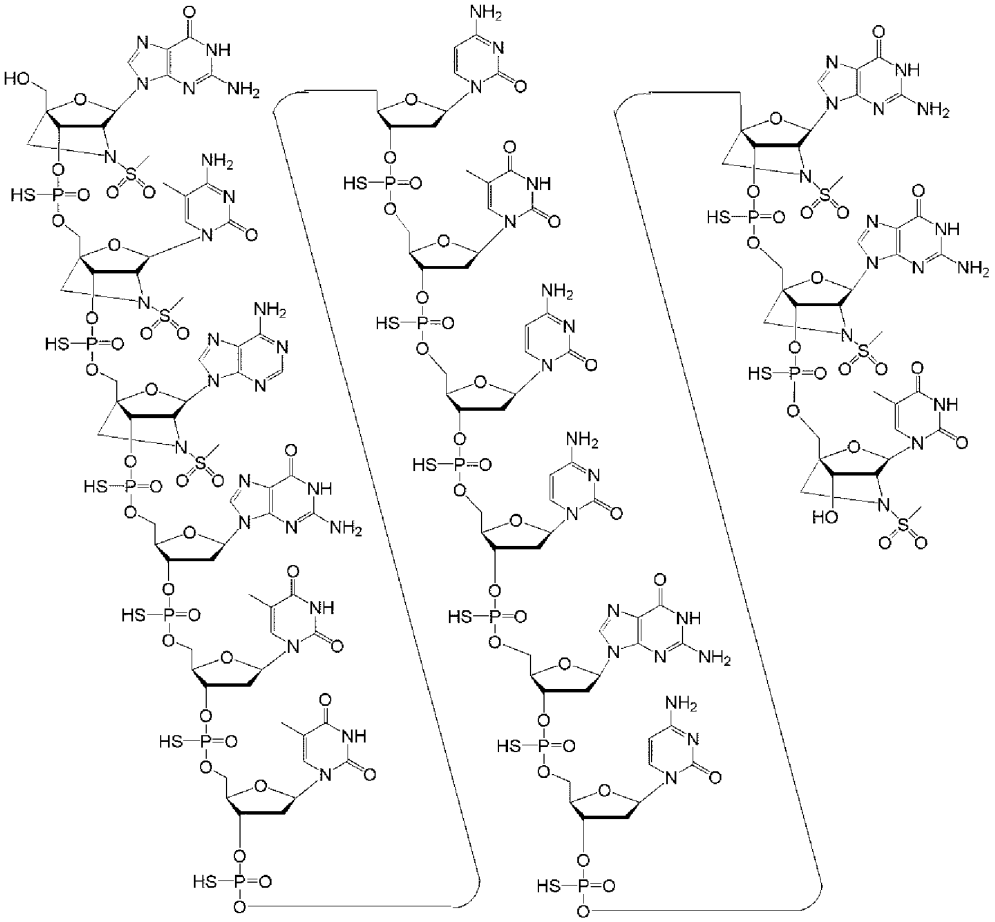
[化2]



によって示される、項［１５］に記載の修飾オリゴヌクレオチドまたはその塩。

[0034] 項［２０］　下式：

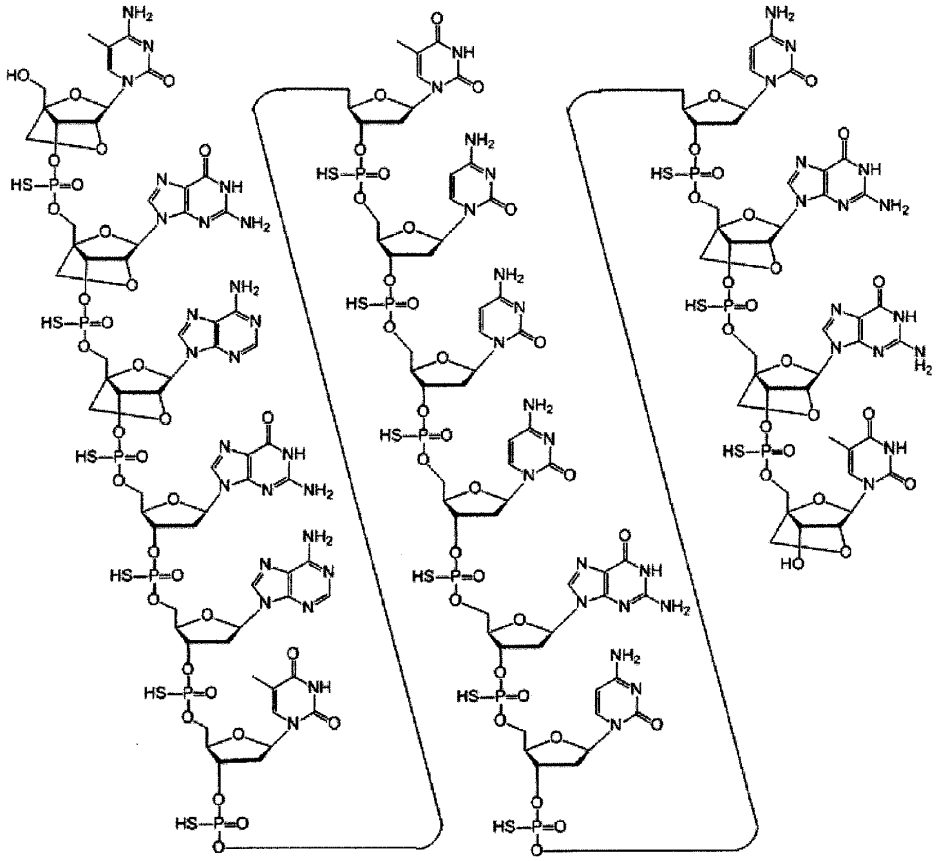
[化3]



によって示される、項［１６］に記載の修飾オリゴヌクレオチドまたはその塩。

[0035] 項［２１］　下式：

[化4]



によって示される、項［１７］に記載の修飾オリゴヌクレオチドまたはその塩。

[0036] 項［２２］　項［１］～項［２１］のいずれか１項に記載の修飾オリゴヌクレオチドまたはその医薬的に許容可能な塩、および薬学的に許容可能な担体を含む医薬組成物。

[0037] 項［２３］　ＤＵＸ４関連疾患の治療、予防、またはその進行の遅延化のための、項［２２］に記載の医薬組成物。

[0038] 項［２４］　前記ＤＵＸ４関連疾患が顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーである、項［２３］に記載の医薬組成物。

[0039] 項［２５］　項［１］～項［２１］のいずれか１項に記載の修飾オリゴヌクレオチドの有効量を、それを必要とする被験者に投与することを特徴とする

、被験者におけるＤＵＸ４関連疾患の治療、予防またはその進行の遅延化のための方法。

[0040] 項［２６］　ＤＵＸ４関連疾患の治療、予防またはその進行の遅延化のための医薬の製造における、項［１］～項［２１］のいずれか１項に記載の修飾オリゴヌクレオチドの使用。

[0041] 項［２７］　ＤＵＸ４関連疾患の治療、予防またはその進行の遅延化のための、項［１］～項［２１］のいずれか１項に記載の修飾オリゴヌクレオチドの使用。

発明の効果

[0042] 本発明により、ＤＵＸ４遺伝子の異常発現に起因する顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーなどの疾患の処置に有効な修飾オリゴヌクレオチドを提供することができる。

図面の簡単な説明

[0043] [図1]各種ＤＵＸ４修飾オリゴヌクレオチド投与によるＤＵＸ４遺伝子発現の抑制効果を示す図面である。

[図2]各種ＤＵＸ４修飾オリゴヌクレオチド投与によるＤＵＸ４遺伝子発現の抑制効果を示す図面である。

[図3]ＤＵＸ４修飾オリゴヌクレオチド投与による、用量依存的なＤＵＸ４遺伝子発現の抑制効果を示す図面である。

[図4]各種ＤＵＸ４修飾オリゴヌクレオチド投与によるＤＵＸ４遺伝子発現の抑制効果を示す図面である。

[図5]ＤＵＸ４修飾オリゴヌクレオチド（化合物番号３）投与による、DUX4 ＴgマウスにおけるクレアチンキナーゼおよびＤＵＸ４　ｍＲＮＡの抑制効果を示す図面である。

[図6]ＤＵＸ４修飾オリゴヌクレオチド（化合物番号１２３、化合物番号２４７、および化合物番号１１３）投与による、ＤＵＸ４　ＴｇマウスにおけるクレアチンキナーゼおよびＤＵＸ４　ｍＲＮＡの抑制効果を示す図面である。

発明を実施するための形態

[0044] 前述の概要及び以下の詳細な説明の両方とも例示的且つ説明的なものに過ぎず、請求される本発明を制限するものではないことを理解されたい。本明細書では、別段の記載がない限り、単数形の使用は複数形を含む。本明細書では、別段の記載がない限り、「または」の使用は「及び／または」を意味する。さらに、用語「含むこと（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」並びに他の形態、例えば「含む（ｉｎｃｌｕｄｅｓ）」及び「含まれる（ｉｎｃｌｕｄｅｄ）」の使用は、限定的なものではない。さらに、別段の記載がない限り、「要素」などの用語は、１つのユニットを含む要素と１つを超えるサブユニットを含む要素を包含する。

[0045] 本明細書で使用されるセクションの見出しは、構成上の目的のためだけであり、記載される主題を制限するものとして解釈されるべきでない。これらに限定されないが、特許、特許出願、記事、書籍及び論文を含めた、本出願で引用されるすべての文書または文書の一部分は、本明細書で論じる文書の一部分に関して、及びその全体が、参照により本明細書に明確に組み込まれる。

[0046]（定義）

具体的な定義が与えられない限り、本明細書に記載の分析化学、有機合成化学、並びに医化学及び薬化学に関連して利用される命名法、及びそれらの手順及び技法は、当技術分野で周知であり、一般に使用されるものである。標準的な技法を、本明細書中で使用する化学合成及び化学分析に使用することができる。許容される場合、本明細書の開示の全体を通して言及される、すべての特許、出願、公開出願及び他の刊行物、国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）などのデータベースを通して入手可能なＧｅｎＢａｎｋ受託番号及び関連する配列情報並びに他のデータは、本明細書に論じる文書の一部分に関して、及びその全体が、参照により組み込まれる。

また、本明細書は、電子フォーマットの配列表と共に出願するが、当該電子フォーマット中に記載する配列表の情報は、参照によりその全体が本明細書中に組み込まれる。

[0047] 別段の指示がない限り、以下の用語は以下の意味を有する。

[0048] 「核酸」は、モノマーのヌクレオチドから成る分子を指す。核酸の例としては、リボ核酸（ＲＮＡ）、デオキシリボ核酸（ＤＮＡ）、一本鎖核酸、二本鎖核酸、低分子干渉リボ核酸（ｓｉＲＮＡ）及びマイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）が挙げられるが、これらに限定されない。核酸は、これらの要素の組み合わせを単一分子中に含むこともできる。

[0049] 「核酸塩基」は、別の核酸の塩基と対形成することができる複素環部分を意味する。核酸塩基には、「修飾核酸塩基」と「非修飾核酸塩基」がある。

[0050] 「核酸塩基配列」は、任意の糖結合または核酸塩基修飾と無関係の、連続的な核酸塩基の順序を意味する。

[0051] 「ヌクレオシド」は、糖に連結した核酸塩基を意味する。ある種の実施態様では、ヌクレオシドはリン酸基に連結している。

[0052] 「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などを有するヌクレオシドを意味する。天然に存在するヌクレオチドは糖部分がリボースまたはデオキシリボースであり、リン酸基を介してホスホジエステル結合により共有結合している。

[0053] 「オリゴマー化合物」または「オリゴマー」は、核酸分子の少なくとも一領域にハイブリダイズすることができる、連結モノマーサブユニットのポリマーを意味する。

[0054] 「オリゴヌクレオチド」は、各ヌクレオシド及び各ヌクレオシド間結合が、互いに独立して、修飾されていても修飾されていなくてもよい、連結したヌクレオシドのポリマーを意味する。

[0055] 「非修飾ヌクレオチド」は、天然に存在する核酸塩基、糖部分及びヌクレオシド間結合から成るヌクレオチドを意味する。ある種の実施態様では、非修飾ヌクレオチドはＲＮＡヌクレオチド（すなわちβ－Ｄ－リボヌクレオシド）またはＤＮＡヌクレオチド（すなわちβ－Ｄ－デオキシリボヌクレオシド）であるが、これらに限定されない。

[0056] 「修飾ヌクレオチド」は、独立に、修飾糖部分、修飾ヌクレオシド間結合

または修飾核酸塩基を有するヌクレオチドを意味する。「修飾ヌクレオシド」は、独立に、修飾糖部分または修飾核酸塩基を有するヌクレオシドを意味する。

[0057] 「ヌクレオシド間結合」は、ヌクレオシド間の化学結合を指す。

[0058] 「連結したヌクレオシド」は、ヌクレオシド間結合によって結合または連結している、隣接ヌクレオシドを意味する。

[0059] 「天然に存在するヌクレオシド間結合」は、３’－５’ホスホジエステル結合を意味する。

[0060] 「修飾ヌクレオシド間結合」は、天然に存在するヌクレオシド間結合（すなわち、ホスホジエステルヌクレオシド間結合）からの置換または任意の変化を指す。例えば、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合があるが、これに限定されない。

[0061] 「ホスホロチオエートヌクレオシド間結合」は、非架橋酸素原子の１つを硫黄原子で置き換えることによってホスホジエステル結合が修飾される、ヌクレオシド間の結合を意味する。ホスホロチオエート結合は、当該修飾ヌクレオシド間結合の１例である。

[0062] 「修飾核酸塩基」は、アデニン、シトシン、グアニン、チミジンまたはウラシル以外の任意の核酸塩基を指す。例えば、５－メチルシトシンがあるが、これに限定されない。「非修飾核酸塩基」は、プリン塩基のアデニン（Ａ）及びグアニン（Ｇ）、並びにピリミジン塩基のチミン（Ｔ）、シトシン（Ｃ）及びウラシル（Ｕ）を意味する。

[0063] 「修飾オリゴヌクレオチド」は、少なくとも１つの当該修飾ヌクレオシド及び／または当該修飾ヌクレオシド間結合を含むオリゴヌクレオチドを意味する。

「塩」とは酸に含まれている１つ以上の解離しうる水素イオンを、金属イオンやアンモニウムイオンなどの陽イオンで置換した化合物の総称であり、修飾オリゴヌクレオチドの塩としては、ホスホロチオエート結合のチオ（Ｓ）基または修飾核酸塩基内の官能基（例えば、アミノ基）上で、無機物イオ

ン（例えば、ナトリウムイオン、マグネシウムイオン）と形成される塩（例えば、ナトリウム塩、マグネシウム塩）を挙げられるが、これらに限定されない。

[0064] 「糖」または「糖部分」は、天然糖部分または修飾糖部分を意味する。

[0065] 「天然糖部分」は、ＤＮＡ（２’－Ｈ）またはＲＮＡ（２’－ＯＨ）中に見られる糖を意味する。

[0066] 「修飾糖」は、天然糖部分からの置換または変化を指す。修飾糖としては、例えば、置換糖部分及び代用糖部分が挙げられる。

[0067] 「置換糖部分」は、ＲＮＡまたはＤＮＡの天然糖以外のフラノシルを意味する。

[0068] 「２’－Ｏ－メトキシエチル」（２’－ＭＯＥ及び２’－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$－ＯＣＨ$_3$も同様）は、フラノシル環の２’位のＯ－メトキシ－エチル修飾を指す。２’－Ｏ－メトキシエチル修飾された糖は修飾糖である。

[0069] 「２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチド」は、２’－Ｏ－メトキシエチル修飾された糖部分を含むヌクレオチドを意味する。

[0070] 「２’－Ｏ－メチル」（２’－ＯＭｅ及び２’－ＯＣＨ$_3$も同様）は、フラノシル環の２’位のＯ－メチル修飾を指す。２’－Ｏ－メチル修飾された糖は修飾糖である。

[0071] 「２’－Ｏ－メチルヌクレオチド」は、２’－Ｏ－メチル修飾された糖部分を含むヌクレオチドを意味する。

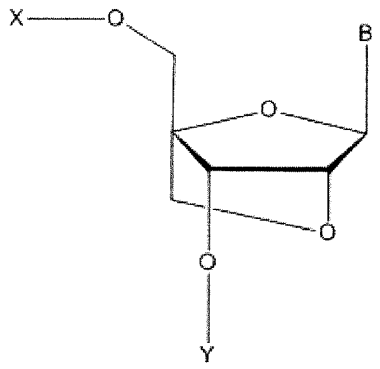
[0072] 「代用糖部分」のための「糖代用物」は、糖ユニット（フラノース環）のみの置き換えを示すことが意図される。糖代用物は、ヌクレオシドの天然に存在する糖部分を置き換えることができ、その結果、得られたヌクレオシドサブユニットは、互いに連結して、及び／または他のヌクレオシドと連結して、相補的オリゴマー化合物とハイブリダイズすることができるオリゴマー化合物を形成することができる。そうした構造体は、フラノシルと異なる数の原子を含む環（例えば、４、６もしくは７員環）；非酸素原子（例えば、炭素、硫黄もしくは窒素）とのフラノシルの酸素の置き換え；または原子数

の変化と酸素の置き換えの両方を含む。そうした構造体は、置換糖部分に関して記載されたものに対応する置換を含むこともできる（例えば、さらなる置換基を任意に含む６員の炭素環式二環式糖代用物）。糖代用物は、より複雑な糖の置き換えも含む（例えば、非環系のペプチド核酸）。糖代用物としては、これらに限定されないが、モルホリノ、シクロヘキセニル及びシクロヘキシトールが挙げられる。

[0073] 「二環式糖」は、同一環上に存在する２つの異なる炭素原子の架橋によって修飾されるフラノシル環を意味する。好ましくは、「二環式糖」は、フラノシル環の２’位と４’位が架橋によって修飾された修飾糖を意味する。「二環式核酸」は、ヌクレオシドまたはヌクレオチドのフラノース部分が、「二環式糖」を含む、ヌクレオシドまたはヌクレオチドを指す。

[0074] 「ＬＮＡ」は、一般的に２’，４’－ロックト核酸（locked nucleic acid）と呼称されるヌクレオシドまたはヌクレオチドを意味し、例えば、一般式：

[化5]



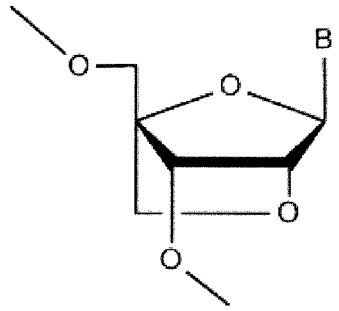
［式中、

Ｂは、核酸塩基であり；

ＸおよびＹは、それぞれ独立に、水素原子、水酸基の保護基、置換されてもよいリン酸基、リン部分または支持体への共有結合等である］

で表されるヌクレオシドまたはヌクレオチドを挙げられる（ＷＯ９８／３９３５２を参照）。典型的な具体例は、下記式：

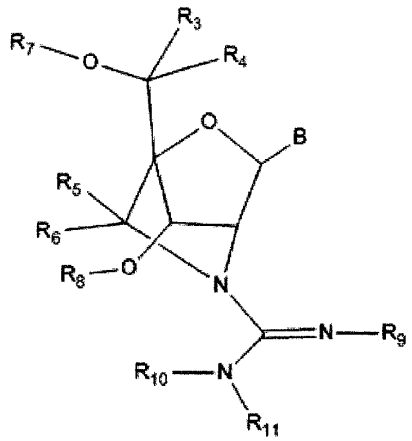
[化6]



で示されるヌクレオチドまたはヌクレオチドを挙げられる。

[0075] 「ＧｕＮＡ」は、下記式：

[化7]

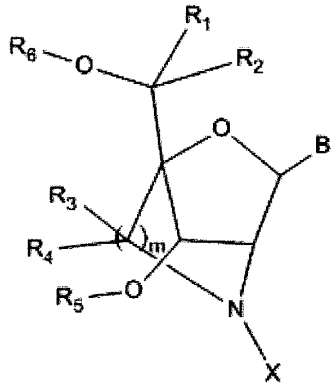


［式中、Ｂは核酸塩基であり、R_3、R_4、R_5、R_6は各々独立して水素原子、または１つ以上の置換基で置換されてもよいC_{1-6}アルキル基であり、R_7、R_8はそれぞれ独立に、水素原子、水酸基の保護基、置換されてもよいリン酸基、リン部分または支持体への共有結合等であり、そしてR_9、R_{10}、R_{11}は各々独立して水素原子、１つ以上の置換基で置換されてもよいC_{1-6}アルキル基、またはアミノ基の保護基である。］

で表されるヌクレオシドまたはヌクレオチドである。（例えば、国際公開第２０１４／０４６２１２号、国際公開第２０１７／０４７８１６号を参照）。

[0076] 「ＡＬＮＡ［ｍＵ］」は、下記一般式（Ｉ）：

[化8]



(I)

［式中、

Ｂは、核酸塩基であり；

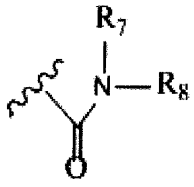
R_1、R_2、R_3およびR_4は各々独立して、水素原子、または１つ以上の置換基で置換されていてもよいC_{1-6}アルキル基であり；

R_5およびR_6は各々独立して、水素原子、水酸基の保護基、または置換されてもよいリン酸基、リン部分または支持体への共有結合等であり；

ｍは、１または２であり；

Ｘは、下記式（ＩＩ－１）：

[化9]



(II-1)

で示される基であり；

式（ＩＩ－１）中に記載の記号：

[化10]



は、２’－アミノ基との結合点を示し；

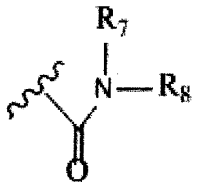
R_7およびR_8の一方が水素原子であり、他方が1つ以上の置換基で置換されてもよいメチル基である。］

で表されるヌクレオシドまたはヌクレオチドである（例えば、特願２０１８－２１２４２４を参照）。典型的な具体例は、R_7およびR_8の一方が水素原子であり、他方が無置換のメチル基である、ヌクレオシドまたはヌクレオチドである。

[0077] 「ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］」は、上記の「ＡＬＮＡ［ｍＵ］」において定義する一般式（Ｉ）で表されるヌクレオシドまたはヌクレオチドであって、該式中、

Ｘが、下記式（ＩＩ－１）：

[化11]



(II-1)

で示される基であり；

R_7およびR_8の一方が水素原子であり、他方が１つ以上の置換基で置換されてもよいイソプロピル基である（例えば、特願２０１８－２１２４２４を参照）。典型的な具体例は、R_7およびR_8の一方が水素原子であり、他方が無置換のイソプロピル基である、ヌクレオシドまたはヌクレオチドである。

[0078] 「ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］」は、上記の「ＡＬＮＡ［ｍＵ］」において定義する一般式（Ｉ）で表されるヌクレオシドまたはヌクレオチドであって、該式中、

Ｘが、下記式（ＩＩ－２）：

[化12]



(II-2)

で示される基であり；

Ａが、１つ以上の置換基で置換されていてもよいトリアゾリル基である（例えば、特願２０１８－２１２４２４を参照）。典型的な具体例は、Aが、１または複数のメチル基を有してもよいトリアゾリル基、より具体的には１，５-ジメチル－１，２，４－トリアゾール－３－イル基である、ヌクレオシドまたはヌクレオチドである。

[0079] 「ＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］」は、上記の「ＡＬＮＡ［ｍＵ］」において定義する一般式（Ｉ）で表されるヌクレオシドまたはヌクレオチドであって、該式中、

Ｘが、下記式（ＩＩ－２）：

[化13]



(II-2)

で示される基であり；

Ａが、１つ以上の置換基で置換されていてもよいオキサジアゾリル基である（例えば、特願２０１８－２１２４２４を参照）。典型的な具体例は、Aが、１または複数のメチル基を有してもよいオキサジアゾリル基、より具体的には、５－メチル－１，２，４－オキサジアゾール－３－イル基である、ヌ

クレオシドまたはヌクレオチドである。

[0080] 「ＡＬＮＡ［Ｍｓ］」は、上記の「ＡＬＮＡ［ｍＵ］」において定義する一般式（Ｉ）で表されるヌクレオシドまたはヌクレオチドであって、該式中、

Ｘが、下記式（ＩＩ－３）：

[化14]



(II-3)

で示される基であり；

Ｍは、１つ以上の置換基で置換されていてもよいメチル基で置換された、スルホニル基である（例えば、特願２０１８－２１２４２４を参照）。典型的な具体例は、Ｍが無置換のメチル基で置換されたスルホニル基である、ヌクレオシドまたはヌクレオチドである。

[0081] 「５－メチルシトシン」は、５位に結合したメチル基で修飾されたシトシンを意味する。５－メチルシトシンは修飾核酸塩基である。

[0082] 「一本鎖オリゴヌクレオチド」は、相補鎖とハイブリダイズしていないオリゴヌクレオチドを意味する。

[0083] 「ＤＵＸ４」は、Double homeobox4ともいわれる転写因子の核酸または蛋白質を意味する。ＤＵＸ４には、例えば、ＤＵＸ４遺伝子から転写される各種スプライシングバリアント、またはその一塩基置換体（ＳＮＰ）が挙げられるが、当該バリアント及び／またはＳＮＰであってもよい。

[0084] ＤＵＸ４　ｍＲＮＡには多くのスプライシングバリアントが報告されている。ヒトＤＵＸ４－ｓ（配列表の配列番号６）はエクソン１内の非典型的なスプライシングドナーサイトにより、短いエクソン１（エクソン１ｓ）、エクソン２、エクソン３からなり、毒性のない短いＤＵＸ４蛋白質をコードする

。ヒトＤＵＸ４－ＦＬはエクソン１、エクソン２、エクソン３からなり、全長のＤＵＸ４蛋白質をコードする。ＤＵＸ４－ＦＬには、イントロン１を含まない成熟ｍＲＮＡであるＤＵＸ４－ＦＬ１（配列表の配列番号１）とイントロン１を含むＤＵＸ４－ＦＬ２（配列表の配列番号５）があるが、いずれも全長のＤＵＸ４蛋白質をコードし、筋肉に発現した場合、ＦＳＨＤの原因とされる（前記非特許文献２を参照）。

[0085] ＤＵＸ４　ｍＲＮＡは正常な精巣にも発現しているが、ＤＵＸ４－ＦＬに加え、エクソン１、エクソン２、エクソン６、エクソン７のスプライシングバリアント、および／またはエクソン１、エクソン２、エクソン４、エクソン５、エクソン６、エクソン７のスプライシングバリアントが発現する（前記非特許文献１を参照）。

[0086] ＤＵＸ４蛋白質は転写因子として機能するが、ＤＵＸ４によって転写が調節される遺伝子としては、例えばＭＢＤ３Ｌ２、ＺＳＣＡＮ４、ＴＲＩＭ４３、ＤＥＦＢ１０３、ＺＮＦ２１７などが挙げられる（前記非特許文献２を参照）。

[0087] 本発明の修飾オリゴヌクレオチドの標的とするＤＵＸ４　ｍＲＮＡは、例えばヒトＤＵＸ４が好ましく、ＤＵＸ４－ＦＬがより好ましく、配列表の配列番号１に記載するＤＵＸ４－ＦＬ１がより一層好ましい。また、本発明のＤＵＸ４に対する修飾オリゴヌクレオチドの標的部位としては、エクソン１、イントロン１、エクソン２、イントロン２、エクソン３が好ましい。

[0088] ＤＵＸ４遺伝子は、転座などの染色体異常により他の遺伝子と融合して発現することが知られている。他の遺伝子としては、例えばＩＧＨ（Yasudaら、Nature Genetics 48(5), 569(2016)）、ＣＩＣ（Yoshimotoら、Cancer research 77, 2927(2017)）、ＥＷＳＲ１（Sirventら、Cancer Genetics and Cytogenetics 195, 12(2009)）が報告されており、それぞれＢ細胞性急性リンパ性白血病、分化円形細胞肉腫、胎児性横紋筋肉腫などの原因遺伝子と考えられている。本発明の修飾オリゴヌクレオチドには、これらの融合遺伝子を標的とする化合物も含まれる。

[0089] 「ＤＵＸ４の発現」は、ＤＵＸ４をコードする遺伝子から転写されたｍＲＮＡのレベル、またはそのｍＲＮＡから翻訳された蛋白質のレベルを意味する。ＤＵＸ４の発現は、ノーザンまたはウェスタンブロット、ＰＣＲなどの当技術分野で既知の方法によって決定することができる。

[0090] 「ＤＵＸ４核酸」は、ＤＵＸ４をコードする任意の核酸を意味する。例えば、ある種の実施態様では、ＤＵＸ４核酸は、ＤＵＸ４をコードするＤＮＡ配列、（イントロン及びエクソンを含むゲノムＤＮＡを含めた）ＤＵＸ４をコードするＤＮＡから転写されるＲＮＡ配列、並びにＤＵＸ４をコードするｍＲＮＡ前駆体またはスプライシングされた成熟ｍＲＮＡを含む。また、ある種の実施態様ではＤＵＸ４遺伝子と他の遺伝子の融合による生じる遺伝子のＤＮＡ配列、ＲＮＡ配列を含む。

[0091] 「ＤＵＸ４　ｍＲＮＡ」は、ＤＵＸ４蛋白質をコードするｍＲＮＡを意味する。

[0092] 「連続的な核酸塩基」、「連続する核酸塩基」は、互いに直接隣接する核酸塩基を意味する。

[0093] 「相補的」は、第一の核酸と第二の核酸の核酸塩基間の対形成に対する能力を意味する。

[0094] 「完全に相補的（相補性ともいう）」または「１００％相補的（相補性ともいう）」は、第一の核酸の核酸塩基配列の各核酸塩基のすべてが、第二の核酸の第二の核酸塩基配列中に相補的核酸塩基を有することを意味する。ある種の実施態様では、第一の核酸は修飾オリゴヌクレオチドであり、標的核酸が第二の核酸である。

[0095] 「ハイブリダイゼーション」は、相補的核酸分子のアニーリングを意味する。ある種の実施態様では、相補的核酸分子としては、修飾オリゴヌクレオチド及び標的核酸が挙げられる。

[0096] 「特異的にハイブリダイズ可能」は、所望の効果を誘導するのに十分な相補性度を修飾オリゴヌクレオチドと標的核酸の間に有し、一方で、特異的結合が所望される条件下、すなわち、インビボアッセイ及び治療的処置の場合

の生理的条件下で、非標的核酸に対して最少の効果しか呈さない、または全く効果を示さない修飾オリゴヌクレオチドを指す。

[0097] 「ミスマッチ」または「非相補的核酸塩基」は、第一の核酸の核酸塩基が、第二の核酸または標的核酸の対応する核酸塩基と対形成できない場合を指す。

[0098] 「ターゲティングする」または「標的とする」は、標的核酸に特異的にハイブリダイズし、所望の効果を誘導する修飾オリゴヌクレオチドの設計及び選択の過程を意味する。

[0099] 「標的核酸」、「標的ＲＮＡ」及び「標的ＲＮＡ転写産物」はすべて、修飾オリゴヌクレオチドが標的とすることができる核酸を指す。ある種の実施態様では、標的核酸はＤＵＸ４核酸の領域を含む。

[0100] 「標的セグメント」は、修飾オリゴヌクレオチドが標的とする、標的核酸のヌクレオチド配列を意味する。「５’標的部位」は、標的セグメントの最も５’側のヌクレオチドを指す。「３’標的部位」は、標的セグメントの最も３’側のヌクレオチドを指す。

[0101] 「活性標的領域」または「標的領域」は、１種または複数の活性な修飾オリゴヌクレオチドが標的にする領域を意味する。「活性な修飾オリゴヌクレオチド」は、標的核酸レベルまたは蛋白質レベルを低減させる修飾オリゴヌクレオチドを意味する。

[0102] 「アンチセンス阻害」は、修飾オリゴヌクレオチドの非存在下での標的核酸レベルまたは標的蛋白質レベルと比較して、標的核酸に相補的な修飾オリゴヌクレオチドの存在下での標的核酸レベルまたは標的蛋白質レベルが低減することを意味する。

[0103] 「ｓｉＲＮＡ」は、標的核酸の対応する領域またはセグメントに対するハイブリダイゼーションを可能にする核酸塩基配列を有する二本鎖RNAオリゴヌクレオチドを意味する。

[0104] 「ｓｈＲＮＡ」は、標的核酸の対応する領域またはセグメントに対するハイブリダイゼーションを可能にする核酸塩基配列を有するヘアピン型の一本

鎖ＲＮＡオリゴヌクレオチドを意味する。

[0105] 「ｓｎｏＲＮＡ」は、核小体に存在するノンコーディングＲＮＡで、標的ＲＮＡ核酸の対応する領域またはセグメントに対するハイブリダイゼーションを可能にする核酸塩基配列を有し、標的ＲＮＡ核酸のメチル化やシュードウリジン化の化学修飾を導く、一本鎖オリゴヌクレオチドを意味する。

[0106] 「ｍｉＲＮＡ」は、他の遺伝子の発現を調節するノンコーディングＲＮＡであり、標的核酸の対応する領域またはセグメントに対するハイブリダイゼーションを可能にする核酸塩基配列を有する一本鎖または二本鎖ＲＮＡオリゴヌクレオチドを意味する。

[0107] 「キャップ構造」または「末端キャップ部分」は、修飾オリゴヌクレオチドのいずれかの末端に組み込まれた化学修飾を意味する。

[0108] 「化学的に異質な領域」は、同じ修飾オリゴヌクレオチド内の別の領域と何らかの点で化学的に異なる修飾オリゴヌクレオチド内の領域を指す。例えば、２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオチドを有する領域は、２’－Ｏ－メトキシエチル修飾されていないヌクレオチドを有する領域と化学的に異なる。

[0109] 「キメラ修飾オリゴヌクレオチド」は、少なくとも２つの化学的に異質な領域を有する修飾オリゴヌクレオチドを意味する。

[0110] 「モチーフ」は、修飾オリゴヌクレオチド中の化学的に異質な領域のパターンを意味する。

[0111] 「ギャップマー」は、ＲＮａｓｅ　Ｈによる切断を支援する複数のヌクレオシドを有する内部領域が、１つまたは複数のヌクレオシドを有する外部領域間に位置し、内部領域を構成するヌクレオシドが、外部領域を構成するヌクレオシド（複数可）と化学的に異なる、修飾オリゴヌクレオチドを意味する。内部領域は、「ギャップセグメント」と言うことができ、外部領域は「ウイングセグメント」と言うことができる。ギャップセグメントより５’に存在するウイングセグメントを「５’ウイングセグメント」と言うことができ、ギャップセグメントより３’に存在するウイングセグメントを「３’ウ

イングセグメント」と言うことができる。

[0112] 「直接隣接する」は、直接隣接する要素間に介在性の要素がないことを意味する。

[0113] 「核内リボヌクレアーゼ」は、核内で見られるリボヌクレアーゼを意味する。核内リボヌクレアーゼとしては、これらに限定されないが、ＲＮａｓｅ Ｈ１及びＲＮａｓｅ Ｈ２を含めたＲＮａｓｅ Ｈ、二本鎖ＲＮａｓｅドローシャ、並びに他の二本鎖ＲＮａｓｅが挙げられる。

[0114] ある種の実施態様では、ギャップマーは、それぞれヌクレオシドの数が１つから８つである５’及び３’ウイングセグメント、および両ウイングセグメントの間に位置し、且つそれらに直接隣接する、ヌクレオシドの数が６個以上であるギャップセグメントであって、修飾糖を含まないヌクレオシドのみを含むか、または、修飾糖を含む１または２個のヌクレオシドを含み、それ以外は修飾糖を含まないヌクレオシドであるギャップセグメントを有する修飾オリゴヌクレオチドを意味する。

[0115] 「薬剤」は、動物に投与された場合に、治療的利益を与えることができる活性物質を意味する。「第一の薬剤」は、本発明の治療用化合物を意味する。例えば、第一の薬剤は、ＤＵＸ４をターゲティングする修飾オリゴヌクレオチドでもよい。「第二の薬剤」は、本発明の第二の治療用化合物（例えば、ＤＵＸ４をターゲティングする第二の修飾オリゴヌクレオチド）及び／またはＤＵＸ４をターゲティングしない治療用化合物を意味する。

[0116] 「医薬的に許容可能な塩」は、修飾オリゴヌクレオチドの生理学的及び医薬的に許容可能な塩、すなわち、修飾オリゴヌクレオチドの所望の生物活性を保持し、望ましくない毒性効果をそれに与えない塩を意味する。

[0117] 「希釈剤」は、薬理学的活性を欠くが、医薬的に必要なまたは望ましい、組成物中の成分を意味する。例えば、注射される組成物中の希釈剤は、液体、例えば生理食塩水でもよい。

[0118] 「ＤＵＸ４関連疾患」は、ＤＵＸ４ ｍＲＮＡもしくはＤＵＸ４蛋白質、またはＤＵＸ４遺伝子の転座による融合遺伝子のｍＲＮＡもしくは蛋白質の

異常発現に起因する疾患をいう。顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー、B細胞性急性リンパ性白血病、分化円形細胞肉腫、胎児性横紋筋肉腫などが挙げられるが、これらに限定されない。

[0119] 「顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー」または「ＦＳＨＤ」は、顔面・肩甲・上腕筋の筋力低下から発症する筋ジストロフィーを意味する。ヒトでは、主として第４番染色体のテロメア（染色体の末端）近傍にあるゲノム反復配列（Ｄ４Ｚ４）の短縮を伴い、その結果ゲノム構造に変化を来し、本来筋（前駆）細胞では発現していないＤＵＸ４遺伝子が異所性に発現され細胞死を引き起こすと考えられている（ＦＳＨＤ１）。また、一部のＦＳＨＤ患者で、遺伝子発現を抑制するゲノム構造制御因子の一つのＳＭＣＨＤ１に遺伝子変異が見つかっている（ＦＳＨＤ２）。

[0120] ＦＳＨＤは、進行性筋衰弱および筋線維消失に関連する筋ジストロフィーの一種である。主に下半身が冒されるデュシェンヌ型筋ジストロフィーおよびベッカー型筋ジストロフィーとは異なり、ＦＳＨＤは、上半身、主として顔面筋、肩甲筋、および上腕筋において発症する。しかしながら、骨盤、腰、下肢において発症する場合もある。ＦＳＨＤの症状は、１０歳～２６歳になってから現れることが多いが、それよりもずっと後になって発症することも稀ではない。場合によっては、全く発症しないこともある。症状は軽度であり、悪化速度も非常に遅いことが通例である。顔面筋衰弱が一般的であり、眼瞼下垂、口笛不能、顔の表情変化の減少、憂鬱または怒り顔表情、語を発音する困難、肩甲筋衰弱（肩甲骨の目立ち（翼状肩甲）および撫肩等の変形の原因となる）、下肢衰弱、聴力損失、および心臓病のおそれ等がありうる。

[0121] 「活性医薬剤」は、動物に投与された場合に治療的利益を提供する、医薬組成物中の物質（複数可）を意味する。例えば、ある種の実施態様では、ＤＵＸ４を標的とする修飾オリゴヌクレオチドは活性医薬剤である。

[0122] 「同時に投与される」は、両方の薬剤に起因する薬理学的効果が同時に患者に発現する任意の様式での、２つの薬剤の共投与を指す。同時投与は、両

方の薬剤が、単一の医薬組成物中で、同じ剤形中で、または同じ投与経路によって投与されることを必要としない。両方の薬剤に起因する薬理学的効果は、同時に発現する必要はない。該薬理学的効果は、ある一定期間内に重複する必要があるだけで、同一の広がりを持つ必要はない。

[0123] 「投与すること」は、薬剤を動物に与えることを意味し、これらに限定されないが、医療専門家による投与及び自己投与が挙げられる。

[0124] 「改善」は、関連する疾患、障害または状態の少なくとも１つの指標、徴候または症状を減らすことを指す。指標の重度は、当業者に既知の主観的または客観的尺度によって決定することができる。

[0125] 「動物」は、ヒト、またはこれらに限定されないが、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタを含めた非ヒト動物、並びにこれらに限定されないが、サル及びチンパンジーを含めた非ヒト霊長類を指す。

[0126] 「共投与」は、個体への２つ以上の薬剤の投与を意味する。２つ以上の薬剤は、単一の医薬組成物中に存在してもよいし、別々の医薬組成物中に存在してもよい。２つ以上の薬剤のそれぞれは、同じまたは異なる投与経路を介して投与することができる。共投与は、並行的または逐次的投与を包含する。

[0127] 「用量」は、単回投与で、または特定の期間で与えられる、医薬剤の特定の量を意味する。ある種の実施態様では、用量は、１、２またそれ以上のボーラス、錠剤、または注射で投与することができる。例えば、皮下投与が所望されるある種の実施態様では、所望の用量は、単回の注射に容易に収容されない容量を必要とするので、所望の用量を達成するのに２以上の注射を使用することができる。ある種の実施態様では、医薬剤は、注入によって、長期間にわたってまたは持続的に投与される。用量は、時間、日、週または月あたりの医薬剤の量として記載され得る。

[0128] 「有効量」または「治療有効量」は、薬剤を必要としている個体において所望の生理的転帰を実現するのに十分である、活性医薬剤の量を意味する。有効量は、処置される個体の健康及び身体状態、処置される個体の分類群、

組成物の製剤、個体の医学的状態の評価並びに他の関連する因子に応じて、個体の間で変動し得る。

[0129] 「顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー（ＦＳＨＤ）を有する動物を特定する」は、ＦＳＨＤの障害もしくは状態と診断された動物を特定すること、またはＦＳＨＤの障害または状態になりやすい動物を特定することを意味する。例えば、家族歴がある個体は、ＦＳＨＤの障害または状態になりやすい可能性がある。

そうした特定は、個体の病歴及び標準的な臨床的な検査または評価を調べることを含めた、任意の方法によって達成することができる。なお、ＦＳＨＤは発症機序により、ＦＳＨＤ１とＦＳＨＤ２が知られているが、両者を含む。

[0130] 「個体」は、処置または療法について選択されたヒトまたは非ヒト動物を意味する。

[0131] 「筋強直症」は、随意収縮または電気刺激後の異常に遅い筋肉弛緩を意味する。

[0132] 「非経口投与」は、注射または注入を介する投与を意味する。非経口投与としては、皮下投与、静脈内投与、筋肉内投与、動脈内投与、腹腔内投与または頭蓋内投与、例えば、髄腔内または脳室内投与が挙げられる。投与は、持続的または長期的でもよいし、短期的または断続的でもよい。

[0133] 「医薬組成物」は、個体への投与に適した物質の混合物を意味する。例えば、医薬組成物は１種または複数の活性薬剤及び滅菌水溶液を含み得る。

[0134] 「予防する」は、数分から無期限の期間にわたって、疾患、障害もしくは好ましくない健康状態、または当該疾患、障害もしくは好ましくない健康状態に関連する1つ以上の症状、の発症または発生を遅延させるかまたは未然に防ぐことを意味する。予防するは、疾患、障害または好ましくない健康状態を発生する危険性を低減させることも意味する。

[0135] 「治療する」は、疾患、障害もしくは好ましくない健康状態、または当該疾患、障害もしくは好ましくない健康状態に関連する１つ以上の症状、を軽

減するか、もしくは排除するか、または、当該疾患、障害、もしくは好ましくない健康状態自体の１つもしくはそれ以上の原因を部分的に解消するかまたは根絶することを意味する。

[0136] 「処置する」は、上記予防または治療を含むと意図する。例えば、当該疾患、障害または好ましくない健康状態の変化または向上をもたらすために、本発明の医薬組成物を投与することをも包含する。

[0137] 「プロドラッグ」は、内在性酵素もしくは他の化学物質または条件の作用によって、体またはその細胞内で活性型に変換される不活性型で調製される治療剤を意味する。

[0138] 「副作用」は、所望の効果以外の、処置に起因し得る生理応答を意味する。ある種の実施態様では、副作用としては、注射部位反応、肝機能検査の異常、腎機能異常、肝毒性、腎毒性、中枢神経系異常、ミオパシー及び倦怠が挙げられる。例えば、血液中のアラニンアミノトランスフェラーゼ（ＡＬＴ）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（ＡＳＴ）またはγ－グルタミルトランスペプチダーゼ（γ－ＧＴＰ）レベルの上昇は、肝毒性または肝機能異常を示し得る。例えば、ビリルビンの上昇は、肝毒性または肝機能異常を示し得る。また、尿たんぱくの上昇、血液中のクレアチニン、尿素窒素（ＵＮ）の上昇は、腎毒性または腎機能異常を示し得る。

[0139] 「皮下投与」は、皮膚の真下の投与を意味する。

[0140] 「治療有効量」は、個体に治療的利益を与える薬剤量を意味する。

[0141] （具体的実施態様）

実施態様

下記に示すある種の具体的実施態様は、これらに限定するものではないが、ＤＵＸ４の発現を阻害するための化合物、該化合物を用いる方法、及び該化合物を含有する医薬組成物を提供する。

[0142] ある種の実施態様は、ＤＵＸ４をターゲティングする修飾オリゴヌクレオチドを含有する化合物を動物に投与することを含む、動物においてＤＵＸ４の発現を低減させる方法を提供する。

[0143] ある種の実施態様は、ＤＵＸ４遺伝子の転写を阻害、もしくはＤＵＸ４ｍＲＮＡの翻訳を阻害、またはＤＵＸ４　ｍＲＮＡの切断を導くことによって、病原性のあるＤＵＸ４転写因子の蓄積を妨げるために、修飾オリゴヌクレオチドを投与する方法を提供する。

[0144] ある種の実施態様は、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーを有する動物の処置方法であって、以下の工程を含む方法を提供する：ａ）顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーを有する前記動物を特定すること、及びｂ）治療有効量の、ＤＵＸ４を標的とする修飾オリゴヌクレオチドを含有する化合物を、前記動物に投与すること。

[0145] ある種の実施態様は、それを必要とする対象において筋強直症を軽減させる方法を提供する。この方法は、ＤＵＸ４　ｍＲＮＡに相補的な修飾オリゴヌクレオチドを対象に投与することを含み、修飾オリゴヌクレオチドは、ＤＵＸ４　ｍＲＮＡに結合した場合に、リボヌクレアーゼまたは核内リボヌクレアーゼを活性化し、それによって、筋強直症を軽減させる。ある種の実施態様では、対象は、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーを有するか、有する疑いがあり、またはＤＵＸ４　ｍＲＮＡを高発現するか、ヒトの第４番染色体にある、Ｄ４Ｚ４リピートの数が減少しているか、もしくはＳＭＣＨＤ１（ＤＮＡメチル化酵素）変異を有するか、有する疑いがある。

[0146] ある種の実施態様では、本発明の方法で使用する修飾オリゴヌクレオチドはキメラである。ある種の実施態様では、本発明で使用する方法の修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーである。

[0147] 本明細書に記載する本発明の方法のある種の実施態様では、投与は皮下投与である。ある種の実施態様では、投与は静脈内または筋肉内の投与である。

[0148] ある種の実施態様では、本発明の方法で使用する修飾オリゴヌクレオチドは、ＤＵＸ４　ｍＲＮＡのＤＵＸ４蛋白質コード領域、イントロン、５’ＵＴＲまたは３’ＵＴＲを標的とする。ある種の実施態様では、本発明の方法で使用する修飾オリゴヌクレオチドは、ＤＵＸ４　ｍＲＮＡのエクソン１、

エクソン２、エクソン３、イントロン１、イントロン２を標的とする。

[0149] 本明細書に記載する本発明の方法のある種の実施態様では、ＤＵＸ４　ｍＲＮＡは核内リボヌクレアーゼのＲＮａｓｅ　Ｈ１により切断される。

[0150] 本発明の方法のある種の実施態様では、ＤＵＸ４　ｍＲＮＡは筋組織で低減される。ある種の実施態様では、スプライシングバリアントであるＤＵＸ４－ＦＬ１（配列表の配列番号１）、ＤＵＸ４－ＦＬ２（配列表の配列番号５）が優先的に低減される。

[0151] ある種の実施態様では、ＤＵＸ４　ｍＲＮＡは、ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＭ＿００１２９３７９８．２に記載の配列（配列表の配列番号１として本明細書に組み込まれる）を有する。配列表の配列番号１のスプライシングバリアントは、ＤＵＸ４－ＦＬ１またはＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡともいう。ある種の実施態様では、ＤＵＸ４　ｍＲＮＡは、ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＭ＿００１３０６０６８．２に記載の配列（配列表の配列番号５として本明細書に組み込まれる）を有する。配列表の配列番号５のスプライシングバリアントは、ＤＵＸ４－ＦＬ２ともいう。ある種の実施態様では、ＤＵＸ４は、ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＭ＿００１３６３８２０．１に記載の配列（配列表の配列番号６として本明細書に組み込まれる）を有する。配列表の配列番号６のスプライシングバリアントは、ＤＵＸ４－ｓともいう。ある種の実施態様では、ＤＵＸ４　ｍＲＮＡは、上記スプライシングバリアントのＳＮＰを有するものである。

[0152] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、１２～３０残基からなる修飾オリゴヌクレオチドであり、かつ配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１２６～１４７位、２３２～２４８位、１３０６～１３２５位または１４７２～１４９５位の等長部分に相補的である少なくとも８個の連続する核酸塩基配列を含む核酸塩基配列である修飾オリゴヌクレオチドを含む核酸塩基配列を有する。ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、１２～３０残基からなる修飾オリゴヌクレオチドであり、かつ配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基

の５’末端から１２６～１４７位、２３２～２４８位、１３０６～１３２５位または１４７２～１４９５位の等長部分に相補的である少なくとも９個、１０個、１１個または１２個の連続する核酸塩基配列を含む核酸塩基配列である修飾オリゴヌクレオチドを含む核酸塩基配列を有する。

修飾オリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１２６～１４７位、２３２～２４８位、１３０６～１３２５位または１４７２～１４９５位の等長部分に相補的である少なくとも８個の連続する核酸塩基配列からなってもよいし、当該核酸塩基配列に加え、５’末端側および／または３’末端側に付加配列を有してもよい。

[0153] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１２６～１４７位の等長部分に相補的である少なくとも８個、９個、１０個、１１個、１２個、１３個、１４個、１５個、１６個、１７個、１８個、１９個、２０個、２１個または２２個の連続する核酸塩基配列を含む核酸塩基配列であり、３０残基以内の修飾オリゴヌクレオチドである。

[0154] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から２３２～２４８位の等長部分に相補的である少なくとも８個、９個、１０個、１１個、１２個、１３個、１４個、１５個、１６個または１７個の連続する核酸塩基配列を含む核酸塩基配列であり、３０残基以内の修飾オリゴヌクレオチドである。

[0155] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１３０６～１３２５位の等長部分に相補的である少なくとも８個、９個、１０個、１１個、１２個、１３個、１４個、１５個、１６個、１７個、１８個、１９個または２０個の連続する核酸塩基配列を含む核酸塩基配列であり、３０残基以内の修飾オリゴヌクレオチドである。

[0156] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１４７２～１４９５位

の等長部分に相補的である少なくとも８個、９個、１０個、１１個、１２個、１３個、１４個、１５個、１６個、１７個、１８個、１９個、２０個、２１個、２２個、２３個または２４個の連続する核酸塩基配列を含む核酸塩基配列であり、３０残基以内の修飾オリゴヌクレオチドである。

[0157] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、１２～３０残基からなる修飾オリゴヌクレオチドであり、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１２６～１４７位の等長部分に相補的である核酸塩基配列を含み、等長部分において配列表の配列番号１に少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％相補的である修飾オリゴヌクレオチドである。また、ある種の実施態様では、１２～２９残基、１２～２８残基、１２～２７残基、１２～２６残基、１２～２５残基、１２～２４残基、１２～２３残基、１２～２２残基、１２～２１残基、１２～２０残基、１２～１９残基、１２～１８残基、１２～１７残基、１２～１６残基、１２～１５残基、１２～１４残基、１３～２９残基、１３～２８残基、１３～２７残基、１３～２６残基、１３～２５残基、１３～２４残基、１３～２３残基、１３～２２残基、１３～２１残基、１３～２０残基、１３～１９残基、１３～１８残基、１３～１７残基、１３～１６残基、１３～１５残基、１３～１４残基、１４～２９残基、１４～２８残基、１４～２７残基、１４～２６残基、１４～２５残基、１４～２４残基、１４～２３残基、１４～２２残基、１４～２１残基、１４～２０残基、１４～１９残基、１４～１８残基、１４～１７残基、１４～１６残基、１４～１５残基の前記修飾オリゴヌクレオチドである。

[0158] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、１２～３０残基からなる修飾オリゴヌクレオチドであり、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から２３２～２４８位の等長部分に相補的である核酸塩基配列を含み、等長部分において配列表の配列番号１に少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％相補的である修飾オリゴヌクレオチドである。

また、ある種の実施態様では、１２～２９残基、１２～２８残基、１２～２７残基、１２～２６残基、１２～２５残基、１２～２４残基、１２～２３残基、１２～２２残基、１２～２１残基、１２～２０残基、１２～１９残基、１２～１８残基、１２～１７残基、１２～１６残基、１２～１５残基、１２～１４残基、１３～２９残基、１３～２８残基、１３～２７残基、１３～２６残基、１３～２５残基、１３～２４残基、１３～２３残基、１３～２２残基、１３～２１残基、１３～２０残基、１３～１９残基、１３～１８残基、１３～１７残基、１３～１６残基、１３～１５残基、１３～１４残基、１４～２９残基、１４～２８残基、１４～２７残基、１４～２６残基、１４～２５残基、１４～２４残基、１４～２３残基、１４～２２残基、１４～２１残基、１４～２０残基、１４～１９残基、１４～１８残基、１４～１７残基、１４～１６残基、１４～１５残基の前記修飾オリゴヌクレオチドである。

[0159] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、１２～３０残基からなる修飾オリゴヌクレオチドであり、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１３０６～１３２５位の等長部分に相補的である核酸塩基配列を含み、等長部分において配列表の配列番号１に少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％相補的である修飾オリゴヌクレオチドである。また、ある種の実施態様では、１２～２９残基、１２～２８残基、１２～２７残基、１２～２６残基、１２～２５残基、１２～２４残基、１２～２３残基、１２～２２残基、１２～２１残基、１２～２０残基、１２～１９残基、１２～１８残基、１２～１７残基、１２～１６残基、１２～１５残基、１２～１４残基、１３～２９残基、１３～２８残基、１３～２７残基、１３～２６残基、１３～２５残基、１３～２４残基、１３～２３残基、１３～２２残基、１３～２１残基、１３～２０残基、１３～１９残基、１３～１８残基、１３～１７残基、１３～１６残基、１３～15残基、１３～１４残基、１４～２９残基、１４～２８残基、１４～２７残基、１４～２６残基、１４～２５残基、１４～２４残基、１４～２３残基、１４～２２残基、１４～２１

残基、１４～２０残基、１４～１９残基、１４～１８残基、１４～１７残基、１４～１６残基、１４～１５残基の前記修飾オリゴヌクレオチドである。

[0160] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、１２～３０残基からなる修飾オリゴヌクレオチドであり、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１４７２～１４９５位の等長部分に相補的である核酸塩基配列を含み、等長部分において配列表の配列番号１に少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％相補的である修飾オリゴヌクレオチドである。また、ある種の実施態様では、１２～２９残基、１２～２８残基、１２～２７残基、１２～２６残基、１２～２５残基、１２～２４残基、１２～２３残基、１２～２２残基、１２～２１残基、１２～２０残基、１２～１９残基、１２～１８残基、１２～１７残基、１２～１６残基、１２～１５残基、１２～１４残基、１３～２９残基、１３～２８残基、１３～２７残基、１３～２６残基、１３～２５残基、１３～２４残基、１３～２３残基、１３～２２残基、１３～２１残基、１３～２０残基、１３～１９残基、１３～１８残基、１３～１７残基、１３～１６残基、１３～１５残基、１３～１４残基、１４～２９残基、１４～２８残基、１４～２７残基、１４～２６残基、１４～２５残基、１４～２４残基、１４～２３残基、１４～２２残基、１４～２１残基、１４～２０残基、１４～１９残基、１４～１８残基、１４～１７残基、１４～１６残基、１４～１５残基からなる前記修飾オリゴヌクレオチドである。

[0161] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、１２～３０残基からなる修飾オリゴヌクレオチドであり、かつ配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１２８～１４３位、２３３～２４８位、１３０９～１３２３位または１４８０～１４９５位の等長部分に相補的である少なくとも８個の連続する核酸塩基配列を含む核酸塩基配列である修飾オリゴヌクレオチドを含む核酸塩基配列を有する。ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、１２～３０残基からなる修飾オリゴヌクレオ

チドであり、かつ配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１２８～１４３位、２３３～２４８位、１３０９～１３２３位または１４８０～１４９５位の等長部分に相補的である少なくとも９個、１０個、１１個、１２個の連続する核酸塩基配列を含む核酸塩基配列である修飾オリゴヌクレオチドを含む核酸塩基配列を有する。

[0162] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１２８～１４３位の等長部分に相補的である少なくとも８個、９個、１０個、１１個、１２個、１３個、１４個、１５個、または１６個の連続する核酸塩基配列を含む核酸塩基配列であり、３０残基以内の修飾オリゴヌクレオチドである。

[0163] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から２３３～２４８位の等長部分に相補的である少なくとも８個、９個、１０個、１１個、１２個、１３個、１４個、１５個または１６個の連続する核酸塩基配列を含む核酸塩基配列であり、３０残基以内の修飾オリゴヌクレオチドである。

[0164] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１３０９～１３２３位の等長部分に相補的である少なくとも８個、９個、１０個、１１個、１２個、１３個、１４個または１５個の連続する核酸塩基配列を含む核酸塩基配列であり、３０残基以内の修飾オリゴヌクレオチドである。

[0165] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１４８０～１４９５位の等長部分に相補的である少なくとも８個、９個、１０個、１１個、１２個、１３個、１４個、１５個または１６個の連続する核酸塩基配列であって、配列番号１の核酸塩基の５’末端から１４８０位の塩基の相補塩基を３’末端に有する核酸塩基配列からなる、３０残基以内の修飾オリゴヌクレオチドである。

[0166] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、１２～３０残基から

なる修飾オリゴヌクレオチドであり、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１２８～１４３位の等長部分に相補的である核酸塩基配列を含み、等長部分において配列表の配列番号１に少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％相補的である修飾オリゴヌクレオチドである。また、ある種の実施態様では、１２～２９残基、１２～２８残基、１２～２７残基、１２～２６残基、１２～２５残基、１２～２４残基、１２～２３残基、１２～２２残基、１２～２１残基、１２～２０残基、１２～１９残基、１２～１８残基、１２～１７残基、１２～１６残基、１２～１５残基、１２～１４残基、１３～２９残基、１３～２８残基、１３～２７残基、１３～２６残基、１３～２５残基、１３～２４残基、１３～２３残基、１３～２２残基、１３～２１残基、１３～２０残基、１３～１９残基、１３～１８残基、１３～１７残基、１３～１６残基、１３～１５残基、１３～１４残基、１４～２９残基、１４～２８残基、１４～２７残基、１４～２６残基、１４～２５残基、１４～２４残基、１４～２３残基、１４～２２残基、１４～２１残基、１４～２０残基、１４～１９残基、１４～１８残基、１４～１７残基、１４～１６残基、１４～１５残基の前記修飾オリゴヌクレオチドである。

[0167] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、１２～３０残基からなる修飾オリゴヌクレオチドであり、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から２３３～２４８位の等長部分に相補的である核酸塩基配列を含み、等長部分において配列表の配列番号１に少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％相補的である修飾オリゴヌクレオチドである。また、ある種の実施態様では、１２～２９残基、１２～２８残基、１２～２７残基、１２～２６残基、１２～２５残基、１２～２４残基、１２～２３残基、１２～２２残基、１２～２１残基、１２～２０残基、１２～１９残基、１２～１８残基、１２～１７残基、１２～１６残基、１２～１５残基、１２～１４残基、１３～２９残基、１３～２８残基、１３～２７残基、１３～２

６残基、１３～２５残基、１３～２４残基、１３～２３残基、１３～２２残基、１３～２１残基、１３～２０残基、１３～１９残基、１３～１８残基、１３～１７残基、１３～１６残基、１３～１５残基、１３～１４残基、１４～２９残基、１４～２８残基、１４～２７残基、１４～２６残基、１４～２５残基、１４～２４残基、１４～２３残基、１４～２２残基、１４～２１残基、１４～２０残基、１４～１９残基、１４～１８残基、１４～１７残基、１４～１６残基、１４～１５残基の前記修飾オリゴヌクレオチドである。

[0168] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、１２～３０残基からなる修飾オリゴヌクレオチドであり、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１３０９～１３２３位の等長部分に相補的である核酸塩基配列を含み、等長部分において配列表の配列番号１に少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％相補的である修飾オリゴヌクレオチドである。また、ある種の実施態様では、１２～２９残基、１２～２８残基、１２～２７残基、１２～２６残基、１２～２５残基、１２～２４残基、１２～２３残基、１２～２２残基、１２～２１残基、１２～２０残基、１２～１９残基、１２～１８残基、１２～１７残基、１２～１６残基、１２～１５残基、１２～１４残基、１３～２９残基、１３～２８残基、１３～２７残基、１３～２６残基、１３～２５残基、１３～２４残基、１３～２３残基、１３～２２残基、１３～２１残基、１３～２０残基、１３～１９残基、１３～１８残基、１３～１７残基、１３～１６残基、１３～１５残基、１４～２９残基、１４～２８残基、１４～２７残基、１４～２６残基、１４～２５残基、１４～２４残基、１４～２３残基、１４～２２残基、１４～２１残基、１４～２０残基、１４～１９残基、１４～１８残基、１４～１７残基、１４～１６残基、１４～１５残基の前記修飾オリゴヌクレオチドである。

[0169] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、１２～３０残基からなる修飾オリゴヌクレオチドであり、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟

ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１４８０～１４９５位の等長部分に相補的である核酸塩基配列であって、配列番号１の核酸塩基の５’末端から１４８０位の塩基の相補塩基を３’末端に有する核酸塩基配列からなり、等長部分において配列表の配列番号１に少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％相補的である修飾オリゴヌクレオチドである。また、ある種の実施態様では、１２～２９残基、１２～２８残基、１２～２７残基、１２～２６残基、１２～２５残基、１２～２４残基、１２～２３残基、１２～２２残基、１２～２１残基、１２～２０残基、１２～１９残基、１２～１８残基、１２～１７残基、１２～１６残基、１２～１５残基、１２～１４残基、１３～２９残基、１３～２８残基、１３～２７残基、１３～２６残基、１３～２５残基、１３～２４残基、１３～２３残基、１３～２２残基、１３～２１残基、１３～２０残基、１３～１９残基、１３～１８残基、１３～１７残基、１３～１６残基、１３～１５残基、１３～１４残基、１４～２９残基、１４～２８残基、１４～２７残基、１４～２６残基、１４～２５残基、１４～２４残基、１４～２３残基、１４～２２残基、１４～２１残基、１４～２０残基、１４～１９残基、１４～１８残基、１４～１７残基、１４～１６残基、１４～１５残基からなる前記修飾オリゴヌクレオチドである。

[0170] ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号１の以下の領域のいずれか１つを標的とする：５’末端から１２６～１４１、１２６～１４３、１２７～１４２、１２７～１４３、１２７～１４４、１２７～１４６、１２８～１４３、１２８～１４４、１２８～１４７、２３２～２４５、２３２～２４７、２３３～２４６、２３３～２４７、２３３～２４８、２３４～２４７、２３４～２４８、１３０４～１３２３、１３０６～１３２１、１３０６～１３２４、１３０７～１３２３、１３０７～１３２４、１３０７～１３２５、１３０７～１３２６、１３０８～１３２３、１３０８～１３２４、１３０８～１３２２、１３０８～１３２５、１３０９～１３２３、１３０９～１３２４、１３０９～１３２５、１３

０９～１３２２、１３１０～１３２３、１３１０～１３２４、１４７２～１４８５、１４７２～１４８６、１４７２～１４８７、１４７２～１４８８、１４７３～１４８７、１４７３～１４８８、１４７３～１４８９、１４７４～１４８８、１４７４～１４８９、１４７５～１４９０、１４７６～１４９０、１４７６～１４９１、１４７６～１４９５、１４７７～１４９５、１４７８～１４９６、１４７９～１４９５、１４７９～１４９６、１４７９～１４９８、１４８０～１４９４、１４８０～１４９５、１４８０～１４９６、１４８０～１４９７または１４８０～１４９９位。ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号１の以下の領域のいずれか１つを標的とする：５’末端から１２８～１４３、２３２～２４７、２３３～２４８、１３０９～１３２３及び１４８０～１４９５位。

[0171] ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドは、標的領域に対して相補的な少なくとも８個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有する。ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドは、標的領域に対して相補的な少なくとも８個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有し、標的領域は、配列表の配列番号１の５’末端から１２６～１４１、１２６～１４３、１２７～１４２、１２７～１４３、１２７～１４４、１２７～１４６、１２８～１４３、１２８～１４４、１２８～１４７、２３２～２４５、２３２～２４７、２３３～２４６、２３３～２４７、２３３～２４８、２３４～２４７、２３４～２４８、１３０４～１３２３、１３０６～１３２１、１３０６～１３２４、１３０７～１３２３、１３０７～１３２４、１３０７～１３２５、１３０７～１３２６、１３０８～１３２３、１３０８～１３２４、１３０８～１３２２、１３０８～１３２５、１３０９～１３２３、１３０９～１３２４、１３０９～１３２５、１３０９～１３２２、１３１０～１３２３、１３１０～１３２４、１４７２～１４８５、１４７２～１４８６、１４７２～１４８７、１４７２～１４８８、１４７３～１４８７、１４

７３～１４８８、１４７３～１４８９、１４７４～１４８８、１４７４～１４８９、１４７５～１４９０、１４７６～１４９０、１４７６～１４９１、１４７６～１４９５、１４７７～１４９５、１４７８～１４９６、１４７９～１４９５、１４７９～１４９６、１４７９～１４９８、１４８０～１４９４、１４８０～１４９５、１４８０～１４９６、１４８０～１４９７または１４８０～１４９９位を標的とする。ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドは、標的領域に対して相補的な少なくとも８個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有し、標的領域は、配列表の配列番号１の５’末端から１２８～１４３、２３２～２４７、２３３～２４８、１３０９～１３２３または１４８０～１４９５位を標的とする。

[0172] ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドは、標的領域に対して相補的な少なくとも１０個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有する。ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドは、標的領域に対して相補的な少なくとも１０個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有し、標的領域は、配列表の配列番号１の５’末端から１２６～１４１、１２６～１４３、１２７～１４２、１２７～１４３、１２７～１４４、１２７～１４６、１２８～１４３、１２８～１４４、１２８～１４７、２３２～２４５、２３２～２４７、２３３～２４６、２３３～２４７、２３３～２４８、２３４～２４７、２３４～２４８、１３０４～１３２３、１３０６～１３２１、１３０６～１３２４、１３０７～１３２３、１３０７～１３２４、１３０７～１３２５、１３０７～１３２６、１３０８～１３２３、１３０８～１３２４、１３０８～１３２２、１３０８～１３２５、１３０９～１３２３、１３０９～１３２４、１３０９～１３２５、１３０９～１３２２、１３１０～１３２３、１３１０～１３２４、１４７２～１４８５、１４７２～１４８６、１４７２～１４８７、１４７２～１４８８、１４７３～１４８７、１４７３～１４８８、１４７３～１４８９、１４７４～１４８８、１４７４

～１４８９、１４７５～１４９０、１４７６～１４９０、１４７６～１４９１、１４７６～１４９５、１４７７～１４９５、１４７８～１４９６、１４７９～１４９５、１４７９～１４９６、１４７９～１４９８、１４８０～１４９４、１４８０～１４９５、１４８０～１４９６、１４８０～１４９７または１４８０～１４９９位を標的とする。ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドは、標的領域に対して相補的な少なくとも１０個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有し、標的領域は、配列表の配列番号１の５’末端から１２８～１４３、２３２～２４７、２３３～２４８、１３０９～１３２３または１４８０～１４９５位を標的とする。

[0173] ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドは、標的領域に対して相補的な少なくとも１２個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有する。ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドは、標的領域に対して相補的な少なくとも１２個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有し、標的領域は、配列表の配列番号１の５’末端から１２６～１４１、１２６～１４３、１２７～１４２、１２７～１４３、１２７～１４４、１２７～１４６、１２８～１４３、１２８～１４４、１２８～１４７、２３２～２４５、２３２～２４７、２３３～２４６、２３３～２４７、２３３～２４８、２３４～２４７、２３４～２４８、１３０４～１３２３、１３０６～１３２１、１３０６～１３２４、１３０７～１３２３、１３０７～１３２４、１３０７～１３２５、１３０７～１３２６、１３０８～１３２３、１３０８～１３２４、１３０８～１３２２、１３０８～１３２５、１３０９～１３２３、１３０９～１３２４、１３０９～１３２５、１３０９～１３２２、１３１０～１３２３、１３１０～１３２４、１４７２～１４８５、１４７２～１４８６、１４７２～１４８７、１４７２～１４８８、１４７３～１４８７、１４７３～１４８８、１４７３～１４８９、１４７４～１４８８、１４７４～１４８９、１４７５～１４９０、１４７６～１４９０、１４７６～１４９

１、１４７６～１４９５、１４７７～１４９５、１４７８～１４９６、１４７９～１４９５、１４７９～１４９６、１４７９～１４９８、１４８０～１４９４、１４８０～１４９５、１４８０～１４９６、１４８０～１４９７または１４８０～１４９９位を標的とする。ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドは、標的領域に対して相補的な少なくとも１２個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有し、標的領域は、配列表の配列番号１の５’末端から１２８～１４３、２３２～２４７、２３３～２４８、１３０９～１３２３または１４８０～１４９５位を標的とする。

[0174] ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドは、標的領域に対して相補的な少なくとも１４個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有する。ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドは、標的領域に対して相補的な少なくとも１４個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有し、標的領域は、配列表の配列番号１の５’末端から１２６～１４１、１２６～１４３、１２７～１４２、１２７～１４３、１２７～１４４、１２７～１４６、１２８～１４３、１２８～１４４、１２８～１４７、２３２～２４５、２３２～２４７、２３３～２４６、２３３～２４７、２３３～２４８、２３４～２４７、２３４～２４８、１３０４～１３２３、１３０６～１３２１、１３０６～１３２４、１３０７～１３２３、１３０７～１３２４、１３０７～１３２５、１３０７～１３２６、１３０８～１３２３、１３０８～１３２４、１３０８～１３２２、１３０８～１３２５、１３０９～１３２３、１３０９～１３２４、１３０９～１３２５、１３０９～１３２２、１３１０～１３２３、１３１０～１３２４、１４７２～１４８５、１４７２～１４８６、１４７２～１４８７、１４７２～１４８８、１４７３～１４８７、１４７３～１４８８、１４７３～１４８９、１４７４～１４８８、１４７４～１４８９、１４７５～１４９０、１４７６～１４９０、１４７６～１４９１、１４７６～１４９５、１４７７～１４９５、１４７８～１４９６、１４

７９～１４９５、１４７９～１４９６、１４７９～１４９８、１４８０～１４９４、１４８０～１４９５、１４８０～１４９６、１４８０～１４９７または１４８０～１４９９位を標的とする。ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドは、標的領域に対して相補的な少なくとも１４個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有し、標的領域は、配列表の配列番号１の５’末端から１２８～１４３、２３２～２４７、２３３～２４８、１３０９～１３２３または１４８０～１４９５位を標的とする。

[0175] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１２６～１４１、１２６～１４３、１２７～１４２、１２７～１４３、１２７～１４４、１２７～１４６、１２８～１４３、１２８～１４４、１２８～１４７、２３２～２４５、２３２～２４７、２３３～２４６、２３３～２４７、２３３～２４８、２３４～２４７、２３４～２４８、１３０４～１３２３、１３０６～１３２１、１３０６～１３２４、１３０７～１３２３、１３０７～１３２４、１３０７～１３２５、１３０７～１３２６、１３０８～１３２３、１３０８～１３２４、１３０８～１３２２、１３０８～１３２５、１３０９～１３２３、１３０９～１３２４、１３０９～１３２５、１３０９～１３２２、１３１０～１３２３、１３１０～１３２４、１４７２～１４８５、１４７２～１４８６、１４７２～１４８７、１４７２～１４８８、１４７３～１４８７、１４７３～１４８８、１４７３～１４８９、１４７４～１４８８、１４７４～１４８９、１４７５～１４９０、１４７６～１４９０、１４７６～１４９１、１４７６～１４９５、１４７７～１４９５、１４７８～１４９６、１４７９～１４９５、１４７９～１４９６、１４７９～１４９８、１４８０～１４９４、１４８０～１４９５、１４８０～１４９６、１４８０～１４９７または１４８０～１４９９位の等長部分に相補的である核酸塩基配列を含む修飾オリゴヌクレオチドである。また、ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’

末端から１２８～１４３、２３２～２４７、２３３～２４８、１３０９～１３２３、１４８０～１４９５位の等長部分に相補的である核酸塩基配列を含む修飾オリゴヌクレオチドである。

[0176] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号２～４、７～６４、６９～９７、１０２～１１２のいずれか１つに記載される核酸塩基配列を含む修飾オリゴヌクレオチドである。また、ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号２～４、７５、７８のいずれか１つに記載される核酸塩基配列を含む修飾オリゴヌクレオチドである。

[0177] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号２～４、７～６４、６９～９７、１０２～１１２のいずれか１つに記載される核酸塩基配列からなる修飾オリゴヌクレオチドである。また、ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは配列表の配列番号２～４、７５、７８のいずれか１つに記載される核酸塩基配列からなる修飾オリゴヌクレオチドである。

[0178] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号２、３、４、７５、または７８のいずれか１つに記載される核酸塩基配列の少なくとも８個の連続的な核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する。

[0179] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号２、３、４、７５、または７８のいずれか１つに記載される核酸塩基配列の少なくとも１０個の連続的な核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する。

[0180] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号２、３、４、７５、または７８のいずれか１つに記載される核酸塩基配列の少なくとも１２個の連続的な核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する。

[0181] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号２、３、４、７５、または７８のいずれか１つに記載される核酸塩基配列の少なくとも１４個の連続的な核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する。

[0182] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号２

、３、４、７５、または７８のいずれか１つに記載される核酸塩基配列からなる核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する。

[0183] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、配列表の配列番号２、３、４、７５、または７８のいずれか１つに記載される核酸塩基配列からなる核酸塩基配列を有する。

[0184] ある種の実施態様では、動物はヒトである。

[0185] ある種の実施態様では、投与は非経口投与を含む。

[0186] ある種の実施態様では、化合物は一本鎖の修飾オリゴヌクレオチドである。

[0187] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、前記修飾オリゴヌクレオチドの全体にわたって測定した場合に、配列表の配列番号１の前記いずれか１つの領域の等長部分に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％相補的である。ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、前記修飾オリゴヌクレオチドの全体にわたって測定した場合に、配列表の配列番号１の前記いずれか１つの領域の等長部分に対して１００％相補的である。

[0188] ある種の実施態様では、前記修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも１つのヌクレオシド間結合は、修飾ヌクレオシド間結合である。ある種の実施態様では、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。

[0189] ある種の実施態様では、前記修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも１つのヌクレオシドは修飾糖を含む。ある種の実施態様では、少なくとも１つの修飾糖は二環式糖である。ある種の実施態様では、少なくとも１つの修飾糖は、２’－Ｏ－メトキシエチル、２’－Ｏ－メチルおよび／または４’－（CH_2）$_n$－Ｏ－２’架橋（式中、ｎは１または２である）を含む。

[0190] ある種の実施態様では、前記修飾オリゴヌクレオチドの糖部分は少なくとも１つの二環式糖である修飾糖を含む。ある種の実施態様では、少なくとも

１つの修飾糖はＬＮＡ、ＧｕＮＡ、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］、ＡＬＮＡ［ｍＵ］、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］、ＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］、および／またはＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］である。

[0191] ある種の実施態様では、前記修飾オリゴヌクレオチドの少なくとも１つのヌクレオシドは、修飾核酸塩基を含む。ある種の実施態様では、修飾核酸塩基は５－メチルシトシンである。

[0192] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、以下を含む：ａ）連結したデオキシヌクレオシドから成るギャップセグメント；ｂ）連結したヌクレオシドから成る５’ウイングセグメント；及びｃ）連結したヌクレオシドから成る３’ウイングセグメント。ギャップセグメントは５’ウイングセグメントと３’ウイングセグメントの間に位置し、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドは２’－Ｏ－メチル修飾糖、２’－Ｏ－メトキシエチル修飾糖または２環式糖などの修飾糖を含む。

[0193] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、以下を含む：ａ）１または２個の２’－Ｏ－メチル修飾糖や２’－Ｏ－メトキシエチル修飾糖などの修飾糖を含むヌクレオシドを含み、それ以外は修飾糖を含まないヌクレオシドであるギャップセグメント；ｂ）連結したヌクレオシドを含む５’ウイングセグメント；及びｃ）連結したヌクレオシドを含む３’ウイングセグメント。ギャップセグメントは５’ウイングセグメントと３’ウイングセグメントの間に位置し、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドは２’－Ｏ－メチル修飾糖、２’－Ｏ－メトキシエチル糖または２環式糖などの修飾糖を含む。

[0194] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、以下を含む：ａ）ヌクレオシドの数が６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５もしくは１６個であるギャップセグメントであって、前記ヌクレオシドは修飾糖を含まないヌクレオシドのみであるか、または２’－Ｏ－メチル修飾糖や２’－Ｏ－メトキシエチル修飾糖などの修飾糖を含むヌクレオシドを１または２個含み、それ以外は修飾糖を含まないヌクレオシド

である、ギャップセグメント；ｂ）ヌクレオシドの数が２、３、４、５、６または７個である５’ウイングセグメント；及びｃ）ヌクレオシドの数が２、３、４、５、６、７または８個である３’ウイングセグメント。

ここで、ギャップセグメントは５’ウイングセグメントと３’ウイングセグメントの間に位置し、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドは２’－Ｏ－メチル修飾糖、２’－Ｏ－メトキシエチル糖または２環式糖を含み、前記修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合はホスホロチオエート結合を含み、前記修飾オリゴヌクレオチド中のシトシンの一部または全部は５’－メチルシトシンであってもよい。

[0195] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、ギャップマーを構成するヌクレオシドの数は１２個、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９または３０個である。

[0196] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、ヌクレオシドの糖部分に於いて、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－メトキシエチル及び／または４’－（CH_2）$_n$－Ｏ－２’架橋（式中、ｎは１または２である）を含む。

[0197] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、ヌクレオシドの糖部分に於いて、ＬＮＡ、ＧｕＮＡ、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］、ＡＬＮＡ［ｍＵ］、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］、ＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］、および／またはＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］を含む。

[0198] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、これは、１２～３０残基からなる修飾オリゴヌクレオチドであり、かつ配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１２６～１４７位、２３２～２４８位、１３０６～１３２５位または１４７２～１４９５位の等長部分に相補的である少なくとも８個の連続する核酸塩基配列を含む核酸塩基配列である修飾オリゴヌクレオチドを含む核酸塩基配列を有する。ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、１２～３０残基

からなる修飾オリゴヌクレオチドであり、かつ配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１２６～１４７位、２３２～２４８位、１３０６～１３２５位または１４７２～１４９５位の等長部分に相補的である少なくとも９個、１０個、１１個または１２個の連続する核酸塩基配列を含む核酸塩基配列である修飾オリゴヌクレオチドを含む核酸塩基配列を有する。

[0199] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１２６～１４７位の等長部分に相補的である少なくとも８個、９個、１０個、１１個、１２個、１３個、１４個、１５個、１６個、１７個、１８個、１９個、２０個、２１個または２２個の連続する核酸塩基配列を含む核酸塩基配列であり、３０残基以内の修飾オリゴヌクレオチドである。

[0200] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から２３２～２４８位の等長部分に相補的である少なくとも８個、９個、１０個、１１個、１２個、１３個、１４個、１５個、１６個または１７個の連続する核酸塩基配列を含む核酸塩基配列であり、３０残基以内の修飾オリゴヌクレオチドである。

[0201] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１３０６～１３２５位の等長部分に相補的である少なくとも８個、９個、１０個、１１個、１２個、１３個、１４個、１５個、１６個、１７個、１８個、１９個または２０個の連続する核酸塩基配列を含む核酸塩基配列であり、３０残基以内の修飾オリゴヌクレオチドである。

[0202] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１４７２～１４９５位の等長部分に相補的である少なくとも８個、９個、１０個、１１個、１２個、１３個、１４個、１５個、１６個、１７個、１８個、

１９個、２０個、２１個、２２個、２３個または２４個の連続する核酸塩基配列を含む核酸塩基配列であり、３０残基以内の修飾オリゴヌクレオチドである。

[0203] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、１２～３０残基からなる修飾オリゴヌクレオチドのギャップマーであり、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１２６～１４７位の等長部分に相補的である核酸塩基配列を含み、等長部分において配列表の配列番号１に少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％相補的である修飾オリゴヌクレオチドである。また、ある種の実施態様では、１２～２９残基、１２～２８残基、１２～２７残基、１２～２６残基、１２～２５残基、１２～２４残基、１２～２３残基、１２～２２残基、１２～２１残基、１２～２０残基、１２～１９残基、１２～１８残基、１２～１７残基、１２～１６残基、１２～１５残基、１２～１４残基、１３～２９残基、１３～２８残基、１３～２７残基、１３～２６残基、１３～２５残基、１３～２４残基、１３～２３残基、１３～２２残基、１３～２１残基、１３～２０残基、１３～１９残基、１３～１８残基、１３～１７残基、１３～１６残基、１３～１５残基、１３～１４残基、１４～２９残基、１４～２８残基、１４～２７残基、１４～２６残基、１４～２５残基、１４～２４残基、１４～２３残基、１４～２２残基、１４～２１残基、１４～２０残基、１４～１９残基、１４～１８残基、１４～１７残基、１４～１６残基、１４～１５残基の前記修飾オリゴヌクレオチドである。

[0204] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、１２～３０残基からなる修飾オリゴヌクレオチドのギャップマーであり、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から２３３～２４８位の等長部分に相補的である核酸塩基配列を含み、等長部分において配列表の配列番号１に少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％相補的である修飾オリゴヌクレ

オチドである。また、ある種の実施態様では、１２～２９残基、１２～２８残基、１２～２７残基、１２～２６残基、１２～２５残基、１２～２４残基、１２～２３残基、１２～２２残基、１２～２１残基、１２～２０残基、１２～１９残基、１２～１８残基、１２～１７残基、１２～１６残基、１２～１５残基、１２～１４残基、１３～２９残基、１３～２８残基、１３～２７残基、１３～２６残基、１３～２５残基、１３～２４残基、１３～２３残基、１３～２２残基、１３～２１残基、１３～２０残基、１３～１９残基、１３～１８残基、１３～１７残基、１３～１６残基、１３～１５残基、１３～１４残基、１４～２９残基、１４～２８残基、１４～２７残基、１４～２６残基、１４～２５残基、１４～２４残基、１４～２３残基、１４～２２残基、１４～２１残基、１４～２０残基、１４～１９残基、１４～１８残基、１４～１７残基、１４～１６残基、１４～１５残基の前記修飾オリゴヌクレオチドである。

[0205] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、１２～３０残基からなる修飾オリゴヌクレオチドのギャップマーであり、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１３０９～１３２３位の等長部分に相補的である核酸塩基配列を含み、等長部分において配列表の配列番号１に少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％相補的である修飾オリゴヌクレオチドである。また、ある種の実施態様では、１２～２９残基、１２～２８残基、１２～２７残基、１２～２６残基、１２～２５残基、１２～２４残基、１２～２３残基、１２～２２残基、１２～２１残基、１２～２０残基、１２～１９残基、１２～１８残基、１２～１７残基、１２～１６残基、１２～１５残基、１２～１４残基、１３～２９残基、１３～２８残基、１３～２７残基、１３～２６残基、１３～２５残基、１３～２４残基、１３～２３残基、１３～２２残基、１３～２１残基、１３～２０残基、１３～１９残基、１３～１８残基、１３～１７残基、１３～１６残基、１３～１５残基、１３～１４残基、１４～２９残基、１４～２８残基、１４～２７残基、１４～

２６残基、１４～２５残基、１４～２４残基、１４～２３残基、１４～２２残基、１４～２１残基、１４～２０残基、１４～１９残基、１４～１８残基、１４～１７残基、１４～１６残基、１４～１５残基の前記修飾オリゴヌクレオチドである。

[0206] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、１２～３０残基からなる修飾オリゴヌクレオチドのギャップマーであり、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１４７２～１４９５位の等長部分に相補的である核酸塩基配列を含み、等長部分において配列表の配列番号１に少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％相補的である修飾オリゴヌクレオチドである。また、ある種の実施態様では、１２～２９残基、１２～２８残基、１２～２７残基、１２～２６残基、１２～２５残基、１２～２４残基、１２～２３残基、１２～２２残基、１２～２１残基、１２～２０残基、１２～１９残基、１２～１８残基、１２～１７残基、１２～１６残基、１２～１５残基、１２～１４残基、１３～２９残基、１３～２８残基、１３～２７残基、１３～２６残基、１３～２５残基、１３～２４残基、１３～２３残基、１３～２２残基、１３～２１残基、１３～２０残基、１３～１９残基、１３～１８残基、１３～１７残基、１３～１６残基、１３～１５残基、１３～１４残基、１４～２９残基、１４～２８残基、１４～２７残基、１４～２６残基、１４～２５残基、１４～２４残基、１４～２３残基、１４～２２残基、１４～２１残基、１４～２０残基、１４～１９残基、１４～１８残基、１４～１７残基、１４～１６残基、１４～１５残基の前記修飾オリゴヌクレオチドである。この場合、５’ウイングセグメントおよび／または３’ウイングセグメントに含まれるオリゴヌクレオチドは少なくとも１つのＧｕＮＡ、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］、ＡＬＮＡ［ｍＵ］、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］、ＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］およびＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］から選択される修飾糖を含むヌクレオシドを少なくとも１つ含み、さらに、２’－Ｏ－メトキシエチルで修飾された糖、および／または２’－Ｏ－メチルで修飾された糖を含んでもよい。

[0207] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、１２～３０残基からなる修飾オリゴヌクレオチドのギャップマーであり、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１４８０～１４９５位の等長部分に相補的である核酸塩基配列であって、配列番号１の核酸塩基の５’末端から１４８０位の塩基の相補塩基を３’末端に有する核酸塩基配列からなり、等長部分において配列表の配列番号１に少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％相補的である修飾オリゴヌクレオチドである。また、ある種の実施態様では、１２～２９残基、１２～２８残基、１２～２７残基、１２～２６残基、１２～２５残基、１２～２４残基、１２～２３残基、１２～２２残基、１２～２１残基、１２～２０残基、１２～１９残基、１２～１８残基、１２～１７残基、１２～１６残基、１２～１５残基、１２～１４残基、１３～２９残基、１３～２８残基、１３～２７残基、１３～２６残基、１３～２５残基、１３～２４残基、１３～２３残基、１３～２２残基、１３～２１残基、１３～２０残基、１３～１９残基、１３～１８残基、１３～１７残基、１３～１６残基、１３～１５残基、１３～１４残基、１４～２９残基、１４～２８残基、１４～２７残基、１４～２６残基、１４～２５残基、１４～２４残基、１４～２３残基、１４～２２残基、１４～２１残基、１４～２０残基、１４～１９残基、１４～１８残基、１４～１７残基、１４～１６残基、１４～１５残基からなる前記修飾オリゴヌクレオチドである。

[0208] ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、配列表の配列番号１の以下の領域のいずれか１つを標的とする：５’末端から１２６～１４１、１２６～１４３、１２７～１４２、１２７～１４３、１２７～１４４、１２７～１４６、１２８～１４３、１２８～１４４、１２８～１４７、２３２～２４５、２３２～２４７、２３３～２４６、２３３～２４７、２３３～２４８、２３４～２４７、２３４～２４８、１３０４～１３２３、１３０６～１３２１、１３０６～１３２４、１３０７～１３２３、１３０７～１３２４、１３０７～１３２５、１３０７～

１３２６、１３０８～１３２３、１３０８～１３２４、１３０８～１３２２、１３０８～１３２５、１３０９～１３２３、１３０９～１３２４、１３０９～１３２５、１３０９～１３２２、１３１０～１３２３、１３１０～１３２４、１４７２～１４８５、１４７２～１４８６、１４７２～１４８７、１４７２～１４８８、１４７３～１４８７、１４７３～１４８８、１４７３～１４８９、１４７４～１４８８、１４７４～１４８９、１４７５～１４９０、１４７６～１４９０、１４７６～１４９１、１４７６～１４９５、１４７７～１４９５、１４７８～１４９６、１４７９～１４９５、１４７９～１４９６、１４７９～１４９８、１４８０～１４９４、１４８０～１４９５、１４８０～１４９６、１４８０～１４９７または１４８０～１４９９位。ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、配列表の配列番号１の以下の領域のいずれか１つを標的とする：５’末端から１２８～１４３、２３２～２４７、２３３～２４８、１３０９～１３２３及び１４８０～１４９５位。

[0209] ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、標的領域に対して相補的な少なくとも８個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有する。ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドは、標的領域に対して相補的な少なくとも８個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有し、標的領域は、配列表の配列番号１の５’末端から１２６～１４１、１２６～１４３、１２７～１４２、１２７～１４３、１２７～１４４、１２７～１４６、１２８～１４３、１２８～１４４、１２８～１４７、２３２～２４５、２３２～２４７、２３３～２４６、２３３～２４７、２３３～２４８、２３４～２４７、２３４～２４８、１３０４～１３２３、１３０６～１３２１、１３０６～１３２４、１３０７～１３２３、１３０７～１３２４、１３０７～１３２５、１３０７～１３２６、１３０８～１３２３、１３０８～１３２４、１３０８～１３２２、１３０８～１３２５、１３０９～１３２３、１３０９～１３２４、１３０９～１３２５、１３０９～

１３２２、１３１０～１３２３、１３１０～１３２４、１４７２～１４８５、１４７２～１４８６、１４７２～１４８７、１４７２～１４８８、１４７３～１４８７、１４７３～１４８８、１４７３～１４８９、１４７４～１４８８、１４７４～１４８９、１４７５～１４９０、１４７６～１４９０、１４７６～１４９１、１４７６～１４９５、１４７７～１４９５、１４７８～１４９６、１４７９～１４９５、１４７９～１４９６、１４７９～１４９８、１４８０～１４９４、１４８０～１４９５、１４８０～１４９６、１４８０～１４９７または１４８０～１４９９位を標的とする。ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、標的領域に対して相補的な少なくとも８個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有し、標的領域は、配列表の配列番号１の５’末端から１２８～１４３、２３２～２４７、２３３～２４８、１３０９～１３２３または１４８０～１４９５位を標的とする。

[0210] ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、標的領域に対して相補的な少なくとも１０個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有する。ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドは、標的領域に対して相補的な少なくとも１０個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有し、標的領域は、配列表の配列番号１の５‘末端から１２６～１４１、１２６～１４３、１２７～１４２、１２７～１４３、１２７～１４４、１２７～１４６、１２８～１４３、１２８～１４４、１２８～１４７、２３２～２４５、２３２～２４７、２３３～２４６、２３３～２４７、２３３～２４８、２３４～２４７、２３４～２４８、１３０４～１３２３、１３０６～１３２１、１３０６～１３２４、１３０７～１３２３、１３０７～１３２４、１３０７～１３２５、１３０７～１３２６、１３０８～１３２３、１３０８～１３２４、１３０８～１３２２、１３０８～１３２５、１３０９～１３２３、１３０９～１３２４、１３０９～１３２５、１３０９～１３２２、１３１０～１３２３、１３１０～１３２４、１４７２～１４

８５、１４７２～１４８６、１４７２～１４８７、１４７２～１４８８、１４７３～１４８７、１４７３～１４８８、１４７３～１４８９、１４７４～１４８８、１４７４～１４８９、１４７５～１４９０、１４７６～１４９０、１４７６～１４９１、１４７６～１４９５、１４７７～１４９５、１４７８～１４９６、１４７９～１４９５、１４７９～１４９６、１４７９～１４９８、１４８０～１４９４、１４８０～１４９５、１４８０～１４９６、１４８０～１４９７または１４８０～１４９９位を標的とする。ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、標的領域に対して相補的な少なくとも１０個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有し、標的領域は、配列表の配列番号１の５’末端から１２８～１４３、２３２～２４７、２３３～２４８、１３０９～１３２３または１４８０～１４９５位を標的とする。

[0211] ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、標的領域に対して相補的な少なくとも１２個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有する。ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドは、標的領域に対して相補的な少なくとも１２個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有し、標的領域は、配列表の配列番号１の５’末端から１２６～１４１、１２６～１４３、１２７～１４２、１２７～１４３、１２７～１４４、１２７～１４６、１２８～１４３、１２８～１４４、１２８～１４７、２３２～２４５、２３２～２４７、２３３～２４６、２３３～２４７、２３３～２４８、２３４～２４７、２３４～２４８、１３０４～１３２３、１３０６～１３２１、１３０６～１３２４、１３０７～１３２３、１３０７～１３２４、１３０７～１３２５、１３０７～１３２６、１３０８～１３２３、１３０８～１３２４、１３０８～１３２２、１３０８～１３２５、１３０９～１３２３、１３０９～１３２４、１３０９～１３２５、１３０９～１３２２、１３１０～１３２３、１３１０～１３２４、１４７２～１４８５、１４７２～１４８６、１４７２～１４８７、１４７２～１４８８、１

４７３～１４８７、１４７３～１４８８、１４７３～１４８９、１４７４～１４８８、１４７４～１４８９、１４７５～１４９０、１４７６～１４９０、１４７６～１４９１、１４７６～１４９５、１４７７～１４９５、１４７８～１４９６、１４７９～１４９５、１４７９～１４９６、１４７９～１４９８、１４８０～１４９４、１４８０～１４９５、１４８０～１４９６、１４８０～１４９７または１４８０～１４９９位を標的とする。ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、標的領域に対して相補的な少なくとも１２個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有し、標的領域は、配列表の配列番号１の５’末端から１２８～１４３、２３２～２４７、２３３～２４８、１３０９～１３２３または１４８０～１４９５位を標的とする。

[0212] ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、標的領域に対して相補的な少なくとも１４個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有する。ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドは、標的領域に対して相補的な少なくとも１４個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有し、標的領域は、配列表の配列番号１の５’末端から１２６～１４１、１２６～１４３、１２７～１４２、１２７～１４３、１２７～１４４、１２７～１４６、１２８～１４３、１２８～１４４、１２８～１４７、２３２～２４５、２３２～２４７、２３３～２４６、２３３～２４７、２３３～２４８、２３４～２４７、２３４～２４８、１３０４～１３２３、１３０６～１３２１、１３０６～１３２４、１３０７～１３２３、１３０７～１３２４、１３０７～１３２５、１３０７～１３２６、１３０８～１３２３、１３０８～１３２４、１３０８～１３２２、１３０８～１３２５、１３０９～１３２３、１３０９～１３２４、１３０９～１３２５、１３０９～１３２２、１３１０～１３２３、１３１０～１３２４、１４７２～１４８５、１４７２～１４８６、１４７２～１４８７、１４７２～１４８８、１４７３～１４８７、１４７３～１４８８、１４７３～１４８９、１４７４～

１４８８、１４７４～１４８９、１４７５～１４９０、１４７６～１４９０、１４７６～１４９１、１４７６～１４９５、１４７７～１４９５、１４７８～１４９６、１４７９～１４９５、１４７９～１４９６、１４７９～１４９８、１４８０～１４９４、１４８０～１４９５、１４８０～１４９６、１４８０～１４９７または１４８０～１４９９位を標的とする。ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、標的領域に対して相補的な少なくとも１４個の連続的な核酸塩基を含有する相補的領域を含む核酸塩基配列を有し、標的領域は、配列表の配列番号１の５’末端から１２８～１４３、２３２～２４７、２３３～２４８、１３０９～１３２３または１４８０～１４９５位を標的とする。

[0213] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１２６～１４１、１２６～１４３、１２７～１４２、１２７～１４３、１２７～１４４、１２７～１４６、１２８～１４３、１２８～１４４、１２８～１４７、２３２～２４５、２３２～２４７、２３３～２４６、２３３～２４７、２３３～２４８、２３４～２４７、２３４～２４８、１３０４～１３２３、１３０６～１３２１、１３０６～１３２４、１３０７～１３２３、１３０７～１３２４、１３０７～１３２５、１３０７～１３２６、１３０８～１３２３、１３０８～１３２４、１３０８～１３２２、１３０８～１３２５、１３０９～１３２３、１３０９～１３２４、１３０９～１３２５、１３０９～１３２２、１３１０～１３２３、１３１０～１３２４、１４７２～１４８５、１４７２～１４８６、１４７２～１４８７、１４７２～１４８８、１４７３～１４８７、１４７３～１４８８、１４７３～１４８９、１４７４～１４８８、１４７４～１４８９、１４７５～１４９０、１４７６～１４９０、１４７６～１４９１、１４７６～１４９５、１４７７～１４９５、１４７８～１４９６、１４７９～１４９５、１４７９～１４９６、１４７９～１４９８、１４８０～１４９４、１４８０～１４９５、１４８０～１４９６、１４８０～１４９７または１４８０～１４９９位の等長部分に相補的である核酸塩

基配列からなる修飾オリゴヌクレオチドである。また、ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、配列表の配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基の５’末端から１２８～１４３、２３２～２４７、２３３～２４８、１３０９～１３２３、１４８０～１４９５位の等長部分に相補的である核酸塩基配列からなる修飾オリゴヌクレオチドである。

[0214] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、配列表の配列番号２～４、７～６４、６９～９７、１０２～１１２のいずれか１つに記載される核酸塩基配列からなる修飾オリゴヌクレオチドである。また、ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、配列表の配列番号２～４、７５、７８のいずれか１つに記載される核酸塩基配列からなる修飾オリゴヌクレオチドである。

[0215] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、化合物番号１～１１２、１１４～１３２、１３７～２４６のいずれか１つに記載される修飾オリゴヌクレオチドである。また、ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、化合物番号１～３、１２３、１５７、２０４、２２１、２３１のいずれか１つに記載される修飾オリゴヌクレオチドである。

[0216] 本明細書中、ヌクレオチドを表す「ＧＩｓ」等の記号において、左側位置に示す略号は核酸塩基部分を意味し、中央位置に示す略号は糖部分を意味し、そして、右側位置に示す略号はヌクレオシド間結合の様式を意味する。

[0217] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、下式：

GlsMlsMlsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMlsGlsGl；

で示される修飾オリゴヌクレオチドであって、

式中

各核酸塩基が下記記号：

Ａ＝アデニン、Ｔ＝チミン、Ｇ＝グアニン、Ｃ＝シトシン、Ｍ＝５－メチル

シトシン、

に従って示され；

各糖部分が下記記号：

Ｉ＝ＬＮＡ、ｄ＝２’－デオキシリボース、

に従って示され；

各ヌクレオシド間結合が下記記号：

ｓ＝ホスホロチオエート

に従って示される、修飾オリゴヌクレオチドである。

[0218] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、

下式：

GmsMmsMmsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMmsGmsGm；

で示される修飾オリゴヌクレオチドであって、

式中、

各核酸塩基が下記記号：

Ａ＝アデニン、Ｔ＝チミン、Ｇ＝グアニン、Ｃ＝シトシン、Ｍ＝５－メチルシトシン、

に従って示され；

各糖部分が下記記号：

ｍ＝ＡＬＮＡ［Ｍｓ］、ｄ＝２’－デオキシリボース、

に従って示され；

各ヌクレオシド間結合が下記記号：

ｓ＝ホスホロチオエートに従って示される、修飾オリゴヌクレオチドである。

[0219] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、

下式：

GmsMmsAmsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsCdsGmsGmsTm；

で示される修飾オリゴヌクレオチドであって、

式中、

各核酸塩基下記記号：

Ａ＝アデニン、Ｔ＝チミン、Ｇ＝グアニン、Ｃ＝シトシン、Ｍ＝５－メチルシトシン、

に従って示され；

各糖部分が下記記号：

ｍ＝ＡＬＮＡ［Ｍｓ］、ｄ＝２’－デオキシリボース、

に従って示され；

各ヌクレオシド間結合が下記記号：

ｓ＝ホスホロチオエート

に従って示される、修飾オリゴヌクレオチドである。

[0220] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドはギャップマーであり、下式：

MlsGlsAlsGdsAdsTdsTdsCdsCdsCdsGdsCdsCdsGlsGlsTl；

に従って示される修飾オリゴヌクレオチドであって、

式中、

各核酸塩基が下記記号：

Ａ＝アデニン、Ｔ＝チミン、Ｇ＝グアニン、Ｃ＝シトシン、Ｍ＝５－メチルシトシン、

に従って示され；

各糖部分が下記記号：

Ｉ＝ＬＮＡ、ｄ＝２’－デオキシリボース、

に従って示され；

各ヌクレオシド間結合が下記記号：

ｓ＝ホスホロチオエート、

に従って示される、修飾オリゴヌクレオチドである。

[0221] ある種の実施態様は、ＤＵＸ４関連疾患の動物において、ＤＵＸ４　ｍＲＮＡ及び／またはＤＵＸ４蛋白質のレベル（例えば、筋肉内レベル）を低減させる方法であって、ＤＵＸ４に対する修飾オリゴヌクレオチドの有効量を

動物に投与することを含む方法を提供する。

[0222] ある種の実施態様は、ＦＳＨＤの動物において、ＤＵＸ４　ｍＲＮＡ及び／またはＤＵＸ４蛋白質のレベル（例えば、筋肉内レベル）を低減させる方法であって、ＤＵＸ４に対する修飾オリゴヌクレオチドの有効量を動物に投与することを含む方法を提供する。また、ある種の実施態様は、ＦＳＨＤの動物において、筋障害を低減させる及び／または運動機能を改善する方法であって、ＤＵＸ４に対する修飾オリゴヌクレオチドの有効量を動物に投与することを含む方法を提供する。

[0223] ある種の実施態様は、ＦＳＨＤの処置、つまり、治療、予防、改善、軽減する方法であって、ＤＵＸ４に対する修飾オリゴヌクレオチドの有効量を動物に投与することを含む方法を提供する。

[0224] ある種の実施態様は、ＦＳＨＤの各種症状（例えば、顔面筋衰弱、眼瞼下垂、口笛不能、顔の表情変化の減少、憂鬱または怒り顔表情、語を発音する困難、肩甲筋衰弱（翼状肩甲、撫肩等の変形）、下肢衰弱、聴力損失、および心臓病）の予防、改善、軽減する方法であって、ＤＵＸ４に対する修飾オリゴヌクレオチドの有効量を動物に投与することを含む方法を提供する。

[0225] ある種の実施態様は、Ｂ細胞性急性リンパ性白血病などの動物において、ＤＵＸ４遺伝子がＩＧＨ遺伝子と融合することにより生じるｍＲＮＡ及び／または蛋白質のレベル（例えば、血中のＢ細胞内レベル）を低減させる方法であって、ＤＵＸ４に対する修飾オリゴヌクレオチドの有効量を動物に投与することを含む方法を提供する。また、ある種の実施態様は、Ｂ細胞性急性リンパ性白血病などの処置、つまり、治療、予防、改善、軽減する方法であって、ＤＵＸ４に対する修飾オリゴヌクレオチドの有効量を動物に投与することを含む方法を提供する。

[0226] ある種の実施態様は、分化円形細胞肉腫などの動物において、ＤＵＸ４遺伝子がＣＩＣ遺伝子と融合することにより生じるｍＲＮＡ及び／または蛋白質のレベル（例えば、肉腫内レベル）を低減させる方法であって、ＤＵＸ４に対する修飾オリゴヌクレオチドの有効量を動物に投与することを含む方法

を提供する。また、ある種の実施態様は、分化円形細胞肉腫などの処置、つまり、治療、予防、改善、軽減する方法であって、ＤＵＸ４に対する修飾オリゴヌクレオチドの有効量を動物に投与することを含む方法を提供する。

[0227] ある種の実施態様は、胎児性横紋筋肉腫などの動物において、ＤＵＸ４遺伝子がＥＷＳＲ１遺伝子と融合することにより生じるｍＲＮＡ及び／または蛋白質のレベル（例えば、肉腫内レベル）を低減させる方法であって、ＤＵＸ４に対する修飾オリゴヌクレオチドを動物に投与することを含む方法を提供する。また、ある種の実施態様は、胎児性横紋筋肉腫などの処置、つまり、治療、予防、改善、軽減する方法であって、ＤＵＸ４に対する修飾オリゴヌクレオチドの有効量を動物に投与することを含む方法を提供する。

[0228] ある種の実施態様は、副作用の少ないＤＵＸ４関連疾患の治療、予防、改善、軽減する方法であって、ＤＵＸ４に対する修飾オリゴヌクレオチドを動物に投与することを含む方法を提供する。ある種の実施態様では、副作用としては、注射部位反応、肝機能検査の異常、腎機能異常、肝毒性（病理組織学的異常所見：肝細胞の変性壊死、肝細胞肥大等）、腎毒性（病理組織学的異常所見等）、中枢神経系異常、ミオパシー及び倦怠が挙げられる。例えば、血液中のＡＬＴ、ＡＳＴ、γ－ＧＴＰ、GLDH、ALP（アルカリフォスファターゼ）またはTBA（total bile acids）レベルの上昇は、肝毒性または肝機能異常を示し得る。例えば、ビリルビンの上昇は、肝毒性または肝機能異常を示し得る。また、尿たんぱくの上昇、血液中のクレアチニン、もしくはＵＮの上昇は、腎毒性または腎機能異常を示し得る。

[0229] ある種の実施態様は、本明細書に記載の治療方法のいずれかで使用するための医薬の製造における、本明細書に記載される任意の化合物または該化合物を含有する医薬組成物の使用を提供する。例えば、ある種の実施態様はＦＳＨＤを処置する、つまり、治療する、予防する、遅延させるまたは改善させるための医薬の製造における、本明細書に記載の化合物または該化合物を含有する医薬組成物の使用を提供する。ある種の実施態様は、ＤＵＸ４の発現を阻害する、並びにＤＵＸ４関連疾患及び／またはその症状を処置する、

つまり、治療する、予防する、遅延させるまたは改善させるための医薬の製造における、本明細書に記載の化合物または該化合物を含有する医薬組成物の使用を提供する。ある種の実施態様は、動物においてＤＵＸ４の発現を低減させるための医薬の製造における、本明細書に記載の化合物または該化合物を含有する医薬組成物の使用を提供する。ある種の実施態様は、動物において、優先的にＤＵＸ４－ＦＬ　ｍＲＮＡのレベル（例えば、筋肉内レベル）を低減させる、筋強直症を軽減させるための医薬の製造における、本明細書に記載の化合物または該化合物を含有する医薬組成物の使用を提供する。ある種の実施態様は、ＦＳＨＤを有する動物を処置するための医薬の製造における、本明細書に記載の化合物または該化合物を含有する医薬組成物の使用を提供する。ある種の実施態様は、筋硬直、筋強直症、顔面筋衰弱、眼瞼下垂、口笛不能、顔の表情変化の減少、憂鬱または怒り顔表情、語を発音する困難、肩甲筋衰弱（翼状肩甲、撫肩等の変形）、下肢衰弱、聴力損失、および心臓病を含めた、ＦＳＨＤの発生と関係がある１つ以上の症状及び転帰を処置するための医薬の製造における、本明細書に記載の化合物または該化合物を含有する医薬組成物の使用を提供する。ある種の実施態様は、ＤＵＸ４遺伝子の転写、ＤＵＸ４　ｍＲＮＡの翻訳、ＤＵＸ４　ｍＲＮＡの切断を導くことによってＤＵＸ４蛋白質の発現を妨げるための医薬の製造における、本明細書に記載の化合物または該化合物を含有する医薬組成物の使用を提供する。

[0230] ある種の実施態様は、本明細書に記載のようにＦＳＨＤを処置する、つまり、治療する、予防するまたは改善させるキットであって、ａ）本明細書に記載の化合物、及び任意にｂ）本明細書に記載のさらなる薬剤または療法を含む、キットを提供する。キットは、ＦＳＨＤを処置する、つまり、治療する、予防する、または改善させる目的でキットを使用するための説明書またはラベルをさらに含むことができる。

[0231] ある種の実施態様は、本明細書に記載の治療方法のいずれかで使用するための医薬の製造における、本明細書に記載される任意の化合物または該化合

物を含有する医薬組成物の使用を提供する。例えば、ある種の実施態様はＦＳＨＤを処置する、つまり、治療する、改善させる、または予防するための医薬の製造における、本明細書に記載の化合物または該化合物を含有する医薬組成物の使用を提供する。ある種の実施態様は、ＤＵＸ４の発現を阻害する並びにＤＵＸ４関連疾患及び／またはその症状を処置する、つまり、治療する、予防する、遅延させるまたは改善させるための医薬の製造における、本明細書に記載の化合物または該化合物を含有する医薬組成物の使用を提供する。ある種の実施態様は、動物においてＤＵＸ４の発現を低減させるための医薬の製造における、本明細書に記載の化合物または該化合物を含有する医薬組成物の使用を提供する。ある種の実施態様は、動物において、優先的にＤＵＸ４－ＦＬ　ｍＲＮＡのレベル（例えば、筋肉内レベル）を低減させる、筋強直症を軽減させるための医薬の製造における、本明細書に記載の化合物または該化合物を含有する医薬組成物の使用を提供する。ある種の実施態様は、ＦＳＨＤを有する動物を処置するための医薬の製造における、本明細書に記載の化合物または該化合物を含有する医薬組成物の使用を提供する。ある種の実施態様は、筋硬直、筋強直症、顔面筋衰弱、眼瞼下垂、口笛不能、顔の表情変化の減少、憂鬱または怒り顔表情、語を発音する困難、肩甲筋衰弱（翼状肩甲、撫肩等の変形）、下肢衰弱、聴力損失、および心臓病を含めた、ＦＳＨＤの発生と関係がある１つ以上の症状及び転帰を処置するための、本明細書に記載の化合物または該化合物を含有する医薬組成物を提供する。ある種の実施態様は、配列表の配列番号２～４、７～６４、６９～９７もしくは１０２～１１２の核酸塩基配列からなる核酸塩基配列を有する修飾オリゴヌクレオチド、または化合物番号１～１１２、１１４～１３２もしくは１３７～２４６の化合物を提供する。

[0232] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、５’から３’の方向で記載される場合、それが標的とする標的核酸の標的セグメントの逆相補鎖を含む核酸塩基配列を有する。ある種のそのような実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、５’から３’の方向で記載される場合、それが標的とす

る標的核酸の標的セグメントの逆相補鎖を含む核酸塩基配列を有する。

[0233] ある種の実施態様では、ＤＵＸ４を標的とする本明細書に記載の修飾オリゴヌクレオチドは、１２～３０ヌクレオチドの長さである。換言すれば、いくつかの実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは１２～３０残基の連結した核酸塩基である。他の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、１２～２９残基、１２～２８残基、１２～２７残基、１２～２６残基、１２～２５残基、１２～２４残基、１２～２３残基、１２～２２残基、１２～２１残基、１２～２０残基、１２～１９残基、１２～１８残基、１２～１７残基、１２～１６残基、１２～１５残基、１２～１４残基、１３～２９残基、１３～２８残基、１３～２７残基、１３～２６残基、１３～２５残基、１３～２４残基、１３～２３残基、１３～２２残基、１３～２１残基、１３～２０残基、１３～１９残基、１３～１８残基、１３～１７残基、１３～１６残基、１３～１５残基、１３～１４残基、１４～２９残基、１４～２８残基、１４～２７残基、１４～２６残基、１４～２５残基、１４～２４残基、１４～２３残基、１４～２２残基、１４～２１残基、１４～２０残基、１４～１９残基、１４～１８残基、１４～１７残基、１４～１６残基、１４～１５残基の連結した核酸塩基から成る修飾オリゴヌクレオチドを含む。ある種のそのような実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９または３０残基の連結した核酸塩基の長さ、または上記の値の任意の２つによって定められた範囲から成る修飾オリゴヌクレオチドを含む。ある種の実施態様では、これらの長さのいずれかの修飾オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載の例示的修飾オリゴヌクレオチドのいずれかの核酸塩基配列の少なくとも８、少なくとも９、少なくとも１０、少なくとも１１、少なくとも１２、少なくとも１３、少なくとも１４、少なくとも１５、少なくとも１６、少なくとも１７、少なくとも１８または少なくとも１９残基の連続的な核酸塩基（例えば、配列表の配列番号２～４、７～６４、６９～９７もしくは１０２～１１２）のいずれか１つに記載される核酸塩基配列の少

なくとも８個の連続的な核酸塩基を含む。

[0234] 活性を無くすことなく、アンチセンスオリゴヌクレオチドなどのアンチセンス化合物の長さを増やすもしくは減らすこと及び／またはミスマッチ塩基を導入することができる。例えば、Ｗｏｏｌｆｅｔ ａｌ．（Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ８９：７３０５－７３０９，１９９２）によれば、１３～２５核酸塩基長の一連のアンチセンスオリゴヌクレオチドを、卵母細胞インジェクションモデルにおいて、それらが標的ＲＮＡの切断を誘導する能力について試験し、アンチセンスオリゴヌクレオチドの末端付近に８または１１個のミスマッチ塩基を有する２５核酸塩基長のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、ミスマッチを含まないアンチセンスオリゴヌクレオチドよりも程度が少ないとはいえ、標的ｍＲＮＡの特異的な切断を導くことができることが報告されている。同様に、標的特異的な切断は、１または３つのミスマッチを有するものを含めて、１３核酸塩基のアンチセンスオリゴヌクレオチドを使用して達成されたことが報告されている。

[0235] Ｇａｕｔｓｃｈｉ ｅｔ ａｌ．（Ｊ．Ｎａｔｌ．Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔ．９３：４６３－４７１，Ｍａｒｃｈ ２００１）によれば、ｂｃｌ－２ ｍＲＮＡに対して１００％の相補性を有し、ｂｃｌ－ｘＬ ｍＲＮＡに対して３つのミスマッチを有するオリゴヌクレオチドが、インビトロ及びインビボにおいてｂｃｌ－２とｂｃｌ－ｘＬの両方の発現を低減させる能力を示たことが報告されている。さらに、このオリゴヌクレオチドは、インビボで、強力な抗腫瘍活性を示したことが報告されている。

[0236] 標的核酸、標的領域及びヌクレオチド配列

ＤＵＸ４をコードするヌクレオチド配列としては、限定されないが、以下の配列が挙げられる。

・ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＭ＿００１２９３７９８．２に記載の配列（配列表の配列番号１として本明細書に組み込まれる）。配列表の配列番号１のスプライシングバリアントは、ＤＵＸ４－ＦＬ１またはＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡともいう。

・ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＭ＿００１３０６０６８．２に記載の配列（配列表の配列番号５として本明細書に組み込まれる）。配列表の配列番号５のスプライシングバリアントは、ＤＵＸ４－ＦＬ２ともいう。

・ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＮＭ＿００１３６３８２０．１に記載の配列（配列表の配列番号６として本明細書に組み込まれる）。配列表の配列番号６のスプライシングバリアントは、ＤＵＸ４－ｓともいう。

・上記各スプライシングバリアントのＳＮＰ。

本明細書に含まれる実施例の配列表の各配列番号に記載される配列は、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対するいかなる修飾とも無関係である。したがって、配列表の配列番号で定められた修飾オリゴヌクレオチドは、独立に、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する１つまたは複数の修飾を含むことができる。化合物番号で記載される修飾オリゴヌクレオチドは、核酸塩基配列とモチーフの組み合わせを示す。

[0237] ある種の実施態様では、標的領域は標的核酸の構造的に定められた領域である。例えば、標的領域は、３’ＵＴＲ、５’ＵＴＲ、エクソン、イントロン、エクソン／イントロン接合部、コード領域、翻訳開始領域、翻訳終結領域または他の定められた核酸領域の１つ以上を包含し得る。ＤＵＸ４についての構造的に定められた領域は、ＮＣＢＩなどの配列データベースから受託番号によって得ることができ、そうした情報は、参照により本明細書に組み込まれる。ある種の実施態様では、標的領域は、標的領域内のある標的セグメントの５’標的部位から標的領域内の別の標的セグメントの３’標的部位までの配列を包含し得る。

[0238] ターゲティングは、修飾オリゴヌクレオチドがハイブリダイズして、その結果所望の効果が生じる、少なくとも１つの標的セグメントの決定を含む。ある種の実施態様では、所望の効果は、ｍＲＮＡ標的核酸レベルの低減である。ある種の実施態様では、所望の効果は、標的核酸にコードされる蛋白質のレベルの低減、または標的核酸と関係がある表現型の変化である。

[0239] 標的領域は、１つまたは複数の標的セグメントを含むことができる。標的

領域内の複数の標的セグメントは、重複していてもよい。あるいは、それらは、重複していなくてもよい。ある種の実施態様では、標的領域内の標的セグメントは、約３００個以下のヌクレオチドによって分離される。ある種の実施態様では、標的領域内の標的セグメントは、標的核酸の２５０、２００、１５０、１００、９０、８０、７０、６０、５０、４０、３０、２０もしくは１０ヌクレオチドである、または、およそこれらの数のヌクレオチドである、または、これらの数以下のヌクレオチドである、または前述の値の任意の２つによって定められた範囲である、多数のヌクレオチドによって分離される。ある種の実施態様では、標的領域内の標的セグメントは、標的核酸の５以下または約５以下のヌクレオチドによって分離される。ある種の実施態様では、標的セグメントは連続的である。本明細書に列挙される５’標的部位または３’標的部位のいずれかである出発核酸を有する範囲により定められる標的領域が意図される。

[0240] 適切な標的セグメントは、５’ＵＴＲ、コード領域、３’ＵＴＲ、イントロン、エクソンまたはエクソン／イントロン接合部内に見出すことができる。開始コドンまたは終止コドンを含む標的セグメントも適切な標的セグメントである。適切な標的セグメントは、開始コドンまたは終止コドンなどのある種の構造的に定められた領域を特異的に排除することができる。

[0241] 適切な標的セグメントの決定は、ゲノム全体にわたる、他の配列との標的核酸の配列の比較を含むことができる。例えば、ＢＬＡＳＴアルゴリズムを使用して、異なる核酸間の類似領域を特定することができる。この比較は、選択された標的核酸以外の配列（すなわち、非標的配列またはオフターゲット配列）に非特異的様式でハイブリダイズし得る修飾オリゴヌクレオチド配列の選択を防ぐことができる。

[0242] 活性標的領域内の修飾オリゴヌクレオチドの（例えば、標的核酸レベルの低減パーセントで定められるような）活性の変動があり得る。ある種の実施態様では、ＤＵＸ４　ｍＲＮＡのレベルの低減は、ＤＵＸ４蛋白質発現の阻害の指標となる。ＤＵＸ４蛋白質のレベルの低減も、標的ｍＲＮＡ発現の阻

害の指標となる。さらに、表現型の変化、例えば、筋強直症を軽減させること、また筋障害を低減させることは、ＤＵＸ４　ｍＲＮＡ及び／または蛋白質の発現の阻害の指標となり得る。

[0243] ハイブリダイゼーション

いくつかの実施態様では、ハイブリダイゼーションは、本明細書に開示される修飾オリゴヌクレオチドとＤＵＸ４核酸の間で生じる。ハイブリダイゼーションの最も一般的なメカニズムは、核酸分子の相補的核酸塩基間の水素結合（例えば、ワトソン‐クリック、フーグスティーンまたは逆フーグスティーン型水素結合）を伴う。ハイブリダイゼーションの強さは融解温度Ｔｍで表すことができる。Ｔｍとは、ハイブリダイゼーションした二重鎖核酸の５０％が単鎖核酸に解離する温度であり、溶液の塩条件、核酸の長さや塩基配列などにより異なるが、Tm値が高いほどハイブリダイゼーションは強い。

[0244] ハイブリダイゼーションは様々な条件下で生じる。ストリンジェント条件は配列依存的であり、ハイブリダイズすることになる核酸分子の性質及び組成によって決定される。

[0245] 配列が標的核酸に特異的にハイブリダイズ可能かどうかを決定する方法は、当技術分野で周知である（Ｓａｍｂｒｏｏｋｅ　ａｎｄ　Ｒｕｓｓｅｌｌ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，３ｒｄ　Ｅｄ．，２００１）。ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドはＤＵＸ４核酸と特異的にハイブリダイズ可能である。

[0246] 相補性

所望の効果が生じる（例えば、ＤＵＸ４核酸などの標的核酸のアンチセンス阻害）ように、修飾オリゴヌクレオチドの十分な数の核酸塩基が標的核酸の対応する核酸塩基と水素結合することができる場合、修飾オリゴヌクレオチド及び標的核酸は互いに相補的である。

[0247] 修飾オリゴヌクレオチドは、介在または隣接するセグメントがハイブリダイゼーション事象に関与しないように（例えば、ループ構造、ミスマッチま

たはヘアピン構造）、ＤＵＸ４核酸の１つまたは複数のセグメントにわたってハイブリダイズすることができる。

[0248] ある種の実施態様では、本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドまたはその特定の部分は、ＤＵＸ４核酸、標的領域、標的セグメントまたはそれらの特定の部分に対して、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％もしくは１００％相補的である。ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、ＤＵＸ４核酸、標的領域、標的セグメントまたはそれらの特定の部分に対して、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％または１００％相補的であり、本明細書に記載の例示的修飾オリゴヌクレオチドのいずれかの核酸塩基配列の少なくとも８、少なくとも９、少なくとも１０、少なくとも１１、少なくとも１２、少なくとも１３、少なくとも１４、少なくとも１５、少なくとも１６、少なくとも１７、少なくとも１８または少なくとも１９個の連続的な核酸塩基（例えば、配列表の配列番号２、３、４、７～６４、６９～９７または１０２～１１２のいずれか１つに記載される核酸塩基配列の少なくとも８個の連続的な核酸塩基）を含む。標的核酸との修飾オリゴヌクレオチドの相補性パーセントは、慣例的方法を使用して決定することができ、修飾オリゴヌクレオチド全体にわたって測定される。

[0249] 例えば、修飾オリゴヌクレオチドの２０個の核酸塩基のうちの１８個が、標的領域に対して相補的であり、したがって特異的にハイブリダイズすると思われる修飾オリゴヌクレオチドは、９０パーセントの相補性に相当する。この例では、残りの非相補的核酸塩基は、クラスター化されていてもよいし、相補的核酸塩基が挟まれていてもよく、互いにまたは相補的核酸塩基と連続的である必要はない。標的核酸領域との修飾オリゴヌクレオチドの相補性パーセントは、当技術分野で既知のＢＬＡＳＴプログラム（ｂａｓｉｃ ｌｏｃａｌ ａｌｉｇｎｍｅｎｔｓｅａｒｃｈ ｔｏｏｌｓ）及びＰｏｗｅｒＢＬ

ＡＳＴプログラム（Ａｌｔｓｃｈｕｌｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，１９９０，２１５，４０３４１０；Ｚｈａｎｇ ａｎｄ Ｍａｄｄｅｎ，Ｇｅｎｏｍｅ Ｒｅｓ．，１９９７，７，６４９６５６）を使用して、慣例的に決定することができる。相同性パーセント、配列同一性または相補性は、例えば、ギャッププログラム（ＷｉｓｃｏｎｓｉｎＳｅｑｕｅｎｃｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ Ｐａｃｋａｇｅ，Ｖｅｒｓｉｏｎ ８ ｆｏｒ Ｕｎｉｘ，Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ，Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｐａｒｋ，Ｍａｄｉｓｏｎ Ｗｉｓ．）によって、Ｓｍｉｔｈ ａｎｄ Ｗａｔｅｒｍａｎ（Ａｄｖ．Ａｐｐｌ．Ｍａｔｈ．，１９８１，２，４８２４８９）のアルゴリズムを使用するデフォルト設定を使用して決定することができる。

[0250] 非相補的核酸塩基の部位は、修飾オリゴヌクレオチドの５’末端でもよいし、３’末端でもよい。あるいは、非相補的核酸塩基（複数可）は、修飾オリゴヌクレオチドの内部の位置でもよい。２つ以上の非相補的核酸塩基が存在する場合は、これらは、連続的（すなわち連結された）でもよいし、非連続的でもよい。一実施態様では、非相補的核酸塩基は、ギャップマー修飾オリゴヌクレオチドのウイングセグメント中に位置する。

[0251] ある種の実施態様では、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９または３０核酸塩基長である、またはこれらの核酸塩基長までの修飾オリゴヌクレオチドは、標的核酸、例えばＤＵＸ４核酸またはその特定の部分に対する、３つ以下、２つ以下または１つ以下の非相補的核酸塩基（複数可）を含む。

[0252] 本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドは、標的核酸の一部分に対して相補的なものも含む。本明細書で使用する場合、「部分」は、標的核酸の領域またはセグメント内の定められた数の連続的（すなわち連結された）核酸塩基を指す。「部分」は、修飾オリゴヌクレオチドの定められた数の連続的な核酸塩基を指すこともできる。ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、標的セグメントの少なくとも８核酸塩基部分に相補的である

。ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、標的セグメントの少なくとも１０核酸塩基部分に相補的である。ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、標的セグメントの少なくとも１５核酸塩基部分に相補的である。標的セグメントの少なくとも８、少なくとも９、少なくとも１０、少なくとも１１、少なくとも１２、少なくとも１３、少なくとも１４、少なくとも１５、少なくとも１６、少なくとも１７、少なくとも１８、少なくとも１９、少なくとも２０もしくはそれ以上の核酸塩基部分、またはこれらの値の任意の２つによって定められた範囲に相補的な修飾オリゴヌクレオチドも意図される。

[0253] 同一性

本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドは、特定のヌクレオチド配列、配列表の配列番号もしくは特定の化合物番号によって表される化合物またはそれらの部分に対して、定められた同一性パーセントを有することもできる。本明細書で使用する場合、修飾オリゴヌクレオチドは、それが同じ核酸塩基対合能力を有する場合、本明細書に開示される配列と同一である。例えば、開示されるＤＮＡ配列のチミジンの代わりにウラシルを含むＲＮＡは、ウラシルとチミジンの両方ともアデニンと対になるので、そのＤＮＡ配列と同一であると考えられる。本明細書に記載の修飾オリゴヌクレオチドの短縮及び延長バージョン及び本明細書で提供される修飾オリゴヌクレオチドに対して同一でない塩基を有する化合物も意図される。同一でない塩基は互いに隣接していてもよいし、修飾オリゴヌクレオチド全体にわたって分散していてもよい。修飾オリゴヌクレオチドの同一性パーセントは、比較される配列に対して同一の塩基対合を有する塩基の数に従って計算される。

[0254] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドまたはその部分は、本明細書に開示される例示的修飾オリゴヌクレオチドもしくは配列表の配列番号またはそれらの部分の１つまたは複数と、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少な

くとも９９％または１００％同一である。

[0255] 修飾

ヌクレオシドは塩基－糖の組み合わせ物である。ヌクレオシドの核酸塩基（塩基としても知られる）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に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については、リン酸基は、糖の２’、３’または５’ヒドロキシル部分に連結し得る。オリゴヌクレオチドは、隣接ヌクレオシドが互いに共有結合することを介して形成されて、直鎖状のポリマーオリゴヌクレオチドを形成する。オリゴヌクレオチド構造内で、リン酸基は、一般に、オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間結合を形成すると言われる。

[0256] 修飾オリゴヌクレオチドにおける修飾は、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化を包含する。修飾修飾オリゴヌクレオチドは、例えば、細胞取り込みの増強、核酸標的に対する親和性の増強、ヌクレアーゼの存在下での安定性の増大または阻害活性の増大などの望ましい特性が理由で、天然型よりも好ましいことが多い。

[0257] 修飾ヌクレオシド間結合

ＲＮＡ及びＤＮＡの天然に存在するヌクレオシド間結合は、３’－５’ホスホジエステル結合である。１つまたは複数の修飾された、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修飾オリゴヌクレオチドは、例えば、細胞取り込みの増強、標的核酸に対する親和性の増強及びヌクレアーゼの存在下での安定性の増大などの望ましい特性が理由で、天然に存在するヌクレオシド間結合を有する修飾オリゴヌクレオチドよりも選択されることが多い。

[0258] 修飾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及び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は、これらに限定されないが、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

アミデート及びホスホロチオエートの１つ以上が挙げられる。リン含有及び非リン含有結合の調製方法は周知である。

[0259] ある種の実施態様では、ＤＵＸ４核酸を標的とする修飾オリゴヌクレオチドは、１つまたは複数の修飾ヌクレオシド間結合を含む。ある種の実施態様では、修飾ヌクレオシド間結合はホスホロチオエート結合である。ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合はホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。

[0260] 修飾糖部分

本発明修飾オリゴヌクレオチドは、それを構成する少なくとも１つのヌクレオシドが修飾糖を含むものが好ましく用いられる。本発明において修飾糖とは、糖部分が修飾されたものをいい、当該修飾糖を１つ以上含む修飾オリゴヌクレオチドは、ヌクレアーゼ安定性の増強、結合親和性の増大等の有利な特徴を有する。修飾糖のうち少なくとも一つは、二環式糖または置換糖部分を有することが好ましい。

[0261] 修飾糖を有するヌクレオシドの例としては、これらに限定されないが、５’－ビニル、５’－メチル（ＲまたはＳ）、４’－Ｓ、２’－Ｆ、２’－ＯＣＨ$_3$、２’－ＯＣＨ$_2$ＣＨ$_3$、２’－ＯＣＨ$_2$ＣＨ$_2$Ｆ及び２’－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$ＯＣＨ$_3$置換基を含むヌクレオシドが挙げられる。２’位の置換基は、アリル、アミノ、アジド、チオ、Ｏ－アリル、Ｏ－Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキル、ＯＣＦ$_3$、ＯＣＨ$_2$Ｆ、Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$ＳＣＨ$_3$、Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$－Ｏ－Ｎ（Ｒ$_m$）（Ｒ$_n$）、Ｏ－ＣＨ$_2$－Ｃ（＝Ｏ）－Ｎ（Ｒ$_m$）（Ｒ$_n$）及びＯ－ＣＨ$_2$－Ｃ（＝Ｏ）－Ｎ（Ｒ$_l$）－（ＣＨ$_2$）$_2$－Ｎ（Ｒ$_m$）（Ｒ$_n$）（式中、各Ｒ$_l$、Ｒ$_m$及びＲ$_n$は独立に、Ｈまたは置換もしくは無置換のＣ$_1$～Ｃ$_{10}$アルキルである）から選択することもできる。

[0262] 二環式糖を有するヌクレオシドの例としては、これらに限定されないが、４’と２’の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。ある種の実施態様では、本明細書で提供されるオリゴヌクレオチドは、架橋が以下の式の１つを含む、１つまたは複数の二環式糖を有するヌクレオシド

を含む：4’－（CH_2）－O－2’（ＬＮＡ）；4’－（CH_2）－Ｓ－２’；4’－（CH_2）$_2$－O－2’（ＥＮＡ）；4’－CH（CH_3）－O－２’及び4’－CH（CH_2OCH_3）－O－2’（及びそれらの類似物。米国特許７，３９９，８４５号を参照されたい）；4’－C（CH_3）（CH_3）－O－2’（及びそれらの類似物。ＷＯ２００９／００６４７８号を参照されたい）；4’－CH_2－Ｎ（OCH_3）－２’（及びそれらの類似物。ＷＯ２００８／１５０７２９号を参照されたい）；4’－CH_2－O－Ｎ（CH_3）－２’（及びそれらの類似物。ＵＳ２００４－０１７１５７０号を参照されたい）；4’－CH_2－Ｎ（Ｒ）－O－２’（式中、Ｒは、Ｈ、Ｃ１～Ｃ１２アルキルまたは保護基である）（米国特許７，４２７，６７２号を参照されたい）；4’－CH_2－C（Ｈ）（CH_3）－２’（及びそれらの類似物。Ｃｈａｔｔｏｐａｄｈｙａｙａｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，２００９，７４，１１８－１３４を参照されたい）；並びに4’－CH_2－C（＝CH_2）－２’（及びそれらの類似物。ＷＯ２００８／１５４４０１号を参照されたい）。

[0263] さらなる二環式糖を有するヌクレオシドが、発表文献に報告されている（例えば：Ｓｒｉｖａｓｔａｖａｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，２００７，１２９（２６）８３６２－８３７９；Ｆｒｉｅｄｅｎｅｔ ａｌ．，ＮｕｃｌｅｉｃＡｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，２００３，２１，６３６５－６３７２；Ｅｌａｙａｄｉｅｔ ａｌ．，Ｃｕｒｒ．ＯｐｉｎｉｏｎＩｎｖｅｎｓ．Ｄｒｕｇｓ，２００１，２，５５８－５６１；Ｂｒａａｓｃｈ ｅｔ ａｌ．，Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．，２００１，８，１－７；Ｏｒｕｍ ｅｔ ａｌ．，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎｉｏｎ Ｍｏｌ．Ｔｈｅｒ．，２００１，３，２３９－２４３；Ｗａｈｌｅｓｔｅｄｔ ｅｔａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．，２０００，９７，５６３３－５６３８；Ｓｉｎｇｈｅｔ ａｌ．，Ｃｈｅｍ．Ｃｏｍｍｕｎ．，１９９８，４，４５５－４５６；Ｋｏｓｈｋｉｎｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ，１９９８，５４，３６０７－３６３０；Ｋｕｍａｒｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ

．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．，１９９８，８，２２１９－２２２２；Ｓｉｎｇｈ ｅｔ ａｌ．，；米国特許US７，３９９，８４５号；６，７７０，７４８号；６，５２５，１９１号；６，２６８，４９０号；米国ＵＳ２００８－００３９６１８号；ＵＳ２００７－０２８７８３１号；ＵＳ２００４－０１７１５７０号；ＵＳ２００９－００１２２８１号；ＷＯ２０１０/０３６６９８；WO ２００９／０６７６４７号；WO２００９/０６７６４７号；ＷＯ２００７／１３４１８１号；ＷＯ２００５／０２１５７０号；ＷＯ２００４／１０６３５６号；ＷＯ９４／１４２２６号；WO ２００９／００６４７８号；ＷＯ２００８／１５４４０１号；及びＷＯ２００８／１５０７２９号を参照されたい）。前述の二環式糖を有するヌクレオシドのそれぞれは、例えばα－Ｌ－リボフラノース及び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配置を有して、調製することができる。

[0264] 二環式糖を有するヌクレオシドのＧｕＮＡはグアニジン架橋を有する人工ヌクレオシドとして報告されている（WO２０１４／０４６２１２号、WO２０１７／０４７８１６号を参照されたい）。二環式ヌクレオシドのＡＬＮＡ［Ｍｓ］、ＡＬＮＡ［ｍＵ］、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］、ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］及びＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］は架橋型人工核酸アミノＬＮＡ（ＡＬＮＡ）として報告されている（日本特許出願　特願２０１８－２１２４２４号を参照されたい）。

[0265] ある種の実施態様では、二環式糖を有するヌクレオシドは、ペントフラノシル糖部分の４’と２’の炭素原子の間に架橋を含み、これらには限定されないが、－［Ｃ（R_a）（R_b）］$_n$－、－Ｃ（R_a）＝Ｃ（R_b）－、－Ｃ（R_a）＝Ｎ－、－Ｃ（＝ＮR_a）－、－Ｃ（＝Ｏ）－、－Ｃ（＝Ｓ）－、－Ｎ（R_a）－、－Ｏ－、－Ｓｉ（R_a）$_2$－及び－Ｓ（＝Ｏ）$_x$－から独立に選択される１つまたは１つから４つの連結基を含む架橋が含まれ、式中、Ｘは０、１または２であり；ｎは１、２、３または４であり；各R_a及びR_bは、独立に、Ｈ、保護基、ヒドロキシル、C_1～C_{12}アルキル、置換C_1～C_{12}アルキル、C_2～C_{12}アルケニル、置換C_2～C_{12}アルケニル、C_2～C_{12}アルキニ

ル、置換C_2～C_{12}アルキニル、芳香環基、置換芳香環基、複素環基、置換複素環基、C_5～C_7脂環基、置換C_5～C_7脂環基、ハロゲン、OJ_1、NJ_1J_2、SJ_1、N_3、$COOJ_1$、アシル（C（＝O）－H）、置換アシル、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、

各J_1及びJ_2は、独立に、H、C_1～C_{12}アルキル、置換C_1～C_{12}アルキル、C_2～C_{12}アルケニル、置換C_2～C_{12}アルケニル、C_2～C_{12}アルキニル、置換C_2～C_{12}アルキニル、芳香環基、置換芳香環基、アシル（C（＝O）－H）、置換アシル、複素環基、置換複素環基、C_1～C_{12}アミノアルキル、置換C_1～C_{12}アミノアルキルまたは保護基である。

[0266] ある種の実施態様では、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。ある種の実施態様では、架橋は、4’－CH_2－2’、4’－（CH_2）$_2$－2’、4’－（CH_2）$_3$－2’、4’－CH_2－O－2’（この場合の二環式糖を有するヌクレオシドをＬＮＡともいう）、4’－（CH_2）$_2$－O－2’、4’－CH_2－O－N（R）－2’及び4’－CH_2－N（R）－O－2’－であり、式中、各Rは独立に、H、保護基またはC_1～C_{12}アルキルである。

[0267] ある種の実施態様では、二環式糖部分の架橋は、4’－CH_2－O－2’－（ＬＮＡ)または－CH_2－N（R）－であり、式中、各Rは独立に－SO_2－CH_3（ＡＬＮＡ［Ｍｓ］）、－CO－NH－CH_3（ＡＬＮＡ［ｍＵ］）、１，５-ジメチル－１，２，４－トリアゾール－３－イル（ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］）、－CO－NH－CH（CH_3）$_2$（ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］）、５－メチル－１，２，４－オキサジアゾール－３－イル（ＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］）である（日本特許出願　特願２０１８－２１２４２４号）。

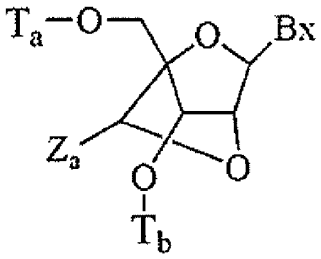
[0268] ある種の実施態様では、二環式糖を有するヌクレオシドは、異性体立体配置によってさらに定義される。例えば、4’－（CH_2）－O－2’架橋を含むヌクレオシドは、α－Ｌ－立体配置で存在してもよいし、β－Ｄ－立体配

置で存在してもよい。

[0269] ある種の実施態様では、二環式糖を有するヌクレオシドは、４’－２’架橋を有するものを含み、そうした架橋としては、これらに限定されないが、α－Ｌ－４’－（ＣＨ$_2$）－Ｏ－２’、β－Ｄ－４’－ＣＨ$_2$－Ｏ－２’、４’－（ＣＨ$_2$）$_2$－Ｏ－２’、４’－ＣＨ$_2$－Ｏ－Ｎ（Ｒ）－２’、４’－ＣＨ$_2$－Ｎ（Ｒ）－Ｏ－２’、４’－ＣＨ（ＣＨ$_3$）－Ｏ－２’、４’－ＣＨ$_2$－Ｓ－２’、４’－ＣＨ$_2$－ＣＨ（ＣＨ$_3$）－２’及び４’－（ＣＨ$_2$）$_3$－２’（式中、Ｒは、Ｈ、保護基、Ｃ$_1$～Ｃ$_{12}$アルキル、またはＣ$_1$～Ｃ$_{12}$アルキルで置換されてもよいウレアもしくはグアニジンである）が挙げられる。

[0270] ある種の実施態様では、二環式糖を有するヌクレオシドは以下の式を有する：

[化15]



式中、

Ｂｘは複素環塩基部分であり；

Ｔ$_a$及びＴ$_b$はそれぞれ独立に、水素原子、水酸基の保護基、置換されてもよいリン酸基、リン部分または支持体への共有結合等であり；

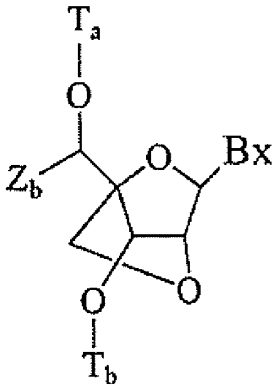
Ｚ$_a$は、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキル、Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルケニル、Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルキニル、置換Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキル、置換Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルケニル、置換Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルキニル、アシル、置換アシル、置換アミド、チオールまたは置換チオールである。

[0271] ある種の実施態様では、置換基のそれぞれは独立に、ハロゲン、オキソ、ヒドロキシル、ＯＪ$_c$、ＮＪ$_c$Ｊ$_d$、ＳＪ$_c$、Ｎ$_3$、ＯＣ（＝Ｘ）Ｊ$_c$及びＮＪ$_e$Ｃ（＝Ｘ）ＮＪ$_c$Ｊ$_d$（式中、各Ｊ$_c$、Ｊ$_d$及びＪ$_e$は独立に、Ｈ、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$ア

ルキルまたは置換Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキルであり、ＸはＯまたはＮＪ$_c$である）から独立に選択される置換基で一置換または多置換される。

[0272] ある種の実施態様では、二環式糖を有するヌクレオシドは以下の式を有する：

[化16]



式中、

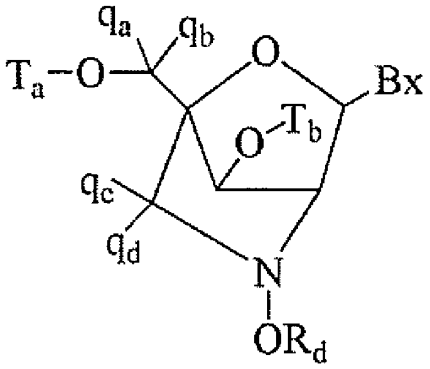
Ｂｘは複素環塩基部分であり；

Ｔ$_a$及びＴ$_b$はそれぞれ独立に、水素原子、水酸基の保護基、置換されてもよいリン酸基、リン部分または支持体への共有結合等であり；

Ｚ$_b$は、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキル、Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルケニル、Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルキニル、置換Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキル、置換Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルケニル、置換Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルキニルまたは置換アシル（Ｃ（＝Ｏ）－）である。

[0273] ある種の実施態様では、二環式糖を有するヌクレオシドは以下の式を有する：

[化17]



式中、

Ｂｘは複素環塩基部分であり；

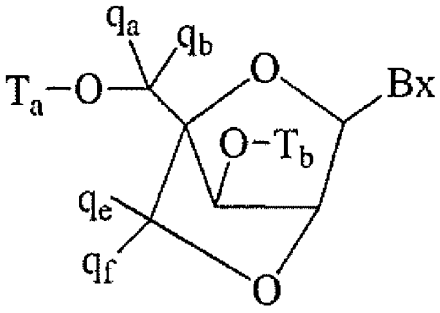
Ｔ$_a$及びＴ$_b$はそれぞれ独立に、水素原子、水酸基の保護基、置換されてもよいリン酸基、リン部分または支持体への共有結合等であり；

Ｒ$_d$は、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキル、置換Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキル、Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルケニル、置換Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルケニル、Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルキニルまたは置換Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルキニルであり；

各ｑ$_a$、ｑ$_b$、ｑ$_c$及びｑ$_d$は独立に、Ｈ、ハロゲン、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキル、置換Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキル、Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルケニル、置換Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルケニル、Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルキニルまたは置換Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルキニル、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルコキシル、置換Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルコキシル、アシル、置換アシル、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アミノアルキルまたは置換Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アミノアルキルである。

[0274] ある種の実施態様では、二環式糖を有するヌクレオシドは以下の式を有する：

[化18]



式中、

Ｂｘは複素環塩基部分であり；

T_a及びT_bはそれぞれ独立に、水素原子、水酸基の保護基、置換されてもよいリン酸基、リン部分または支持体への共有結合等であり；

q_a、q_b、q_e及びq_fはそれぞれ独立に、水素、ハロゲン、C_1～C_{12}アルキル、置換C_1～C_{12}アルキル、C_2～C_{12}アルケニル、置換C_2～C_{12}アルケニル、C_2～C_{12}アルキニル、置換C_2～C_{12}アルキニル、C_1～C_{12}アルコキシ、置換C_1～C_{12}アルコキシ、OJ_j、SJ_j、SOJ_j、SO_2J_j、NJ_jJ_k、N_3、ＣＮ、Ｃ（＝Ｏ）ＯＪｊ、Ｃ（＝Ｏ）NJ_jJ_k、Ｃ（＝Ｏ）J_j、Ｏ－Ｃ（＝Ｏ）NJ_jJ_k、Ｎ（Ｈ）Ｃ（＝ＮＨ）NJ_jJ_k、Ｎ（Ｈ）Ｃ（＝Ｏ）-NJ_jJ_kもしくはＮ（Ｈ）Ｃ（＝Ｓ）NJ_jJ_kであり；

または、q_e及びq_fは共に＝Ｃ（q_g）（q_h）であり；

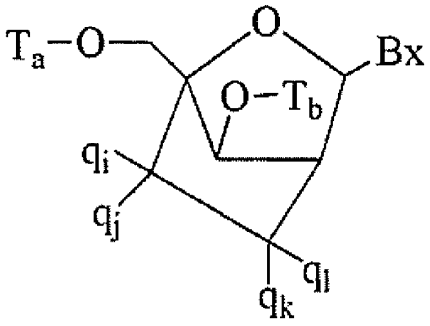
q_g及びq_hはそれぞれ独立に、Ｈ、ハロゲン、C_1～C_{12}アルキルもしくは置換C_1～C_{12}アルキルである。

[0275] ４’－CH_2－Ｏ－２’架橋を有する、アデニン、シトシン、グアニン、５－メチル－シトシン、チミン及びウラシル二環式ヌクレオシド（ＬＮＡともいう）の合成及び調製は、それらのオリゴマー化及び核酸認識特性と共に記載されている（Ｋｏｓｈｋｉｎｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ，１９９８，５４，３６０７－３６３０）。二環式糖を有するヌクレオシドの合成は、ＷＯ９８／３９３５２及びＷＯ９９／１４２２６にも記載されている。

[0276] ４’－ＣＨ$_2$－Ｏ－２’（この場合の二環式ヌクレオシドをＬＮＡともいう）及び４’－ＣＨ$_2$－Ｓ－２’などの４’－２’架橋基を有する様々な二環式ヌクレオシドの類似物も、調製されている（Ｋｕｍａｒｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．，１９９８，８，２２１９－２２２２）。核酸ポリメラーゼの基質として使用するための、二環式ヌクレオシドを含むオリゴデオキシリボヌクレオチド二本鎖の調製も記載されている（Ｗｅｎｇｅｌｅｔ ａｌ．，ＷＯ９９／１４２２６）。さらに、２’－アミノ－ＢＮＡ（この場合の二環式ヌクレオシドをＡＬＮＡともいう）、すなわち立体構造的に制限された高親和性オリゴヌクレオチド類似物の合成が、当技術分野で記載されている（Ｓｉｎｇｈｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，１９９８，６３，１００３５－１００３９）。さらに、２’－アミノ－及び２’－メチルアミノ－ＢＮＡが調製されており、相補的なＲＮＡ鎖及びＤＮＡ鎖との二本鎖の熱安定性が以前に報告されている。

[0277] ある種の実施態様では、二環式糖を有するヌクレオシドは以下の式を有する：

[化19]



式中、

Ｂｘは複素環塩基部分であり；

Ｔ$_a$及びＴ$_b$はそれぞれ独立に、水素原子、水酸基の保護基、置換されてもよいリン酸基、リン部分または支持体への共有結合等であり；

各ｑ$_i$、ｑ$_j$、ｑ$_k$及びｑ$_l$は独立に、Ｈ、ハロゲン、Ｃ$_1$～Ｃ$_{12}$アルキル、置換Ｃ$_1$～Ｃ$_{12}$アルキル、Ｃ$_2$～Ｃ$_{12}$アルケニル、置換Ｃ$_2$～Ｃ$_{12}$アルケニル

、C_2～C_{12}アルキニル、置換C_2～C_{12}アルキニル、C_1～C_{12}アルコキシル、置換C_1～C_{12}アルコキシル、OJ_j、SJ_j、SOJ_j、SO_2J_j、NJ_jJ_k、N_3、CN、C（＝O）OJ_j、C（＝O）NJ_jJ_k、C（＝O）J_j、O－C（＝O）NJ_jJ_k、N（H）C（＝NH）NJ_jJ_k、N（H）C（＝O）NJ_jJ_kまたはN（H）C（＝S）NJ_jJ_kであり；

q_i及びq_jまたはq_l及びq_kは共に＝C（q_g）（q_h）であり、式中、q_g及びq_hはそれぞれ独立に、H、ハロゲン、C_1～C_{12}アルキルまたは置換C_1～C_{12}アルキルである。

[0278] 4’－（CH_2）3－2’架橋及びアルケニル類似物架橋4’－CH＝CH－CH_2－2’を有する1つの炭素環式二環式ヌクレオシドが記載されている（Frieret al.，NucleicAcids Research，1997，25（22），4429－4443及びAlbaeketal.，J．Org．Chem.，2006，71，7731－7740）。炭素環式二環式ヌクレオシドの合成及び調製も、そのオリゴマー化及び生化学的な研究と共に記載されている（Srivastavaetal.，J．Am．Chem．Soc．2007，129（26），8362－8379）。

[0279] ある種の実施態様では、二環式糖を有するヌクレオシドとしては、これらに限定されないが、以下に示すような、

（A）α－L－メチレンオキシ（4’－CH_2－O－2’）BNA、

（B）β－D－メチレンオキシ（4’－CH_2－O－2’）BNA、

（C）エチレンオキシ（4’－（CH_2）$_2$－O－2’）BNA、

（D）アミノオキシ（4’－CH_2－O－N（R）－2’）BNA、

（E）オキシアミノ（4’－CH_2－N（R）－O－2’）BNA、

（F）メチル（メチレンオキシ）（4’－CH（CH_3）－O－2’）BNA（拘束エチルまたはcEtとも言われる）、

（G）メチレン－チオ（4’－CH_2－S－2’）BNA、

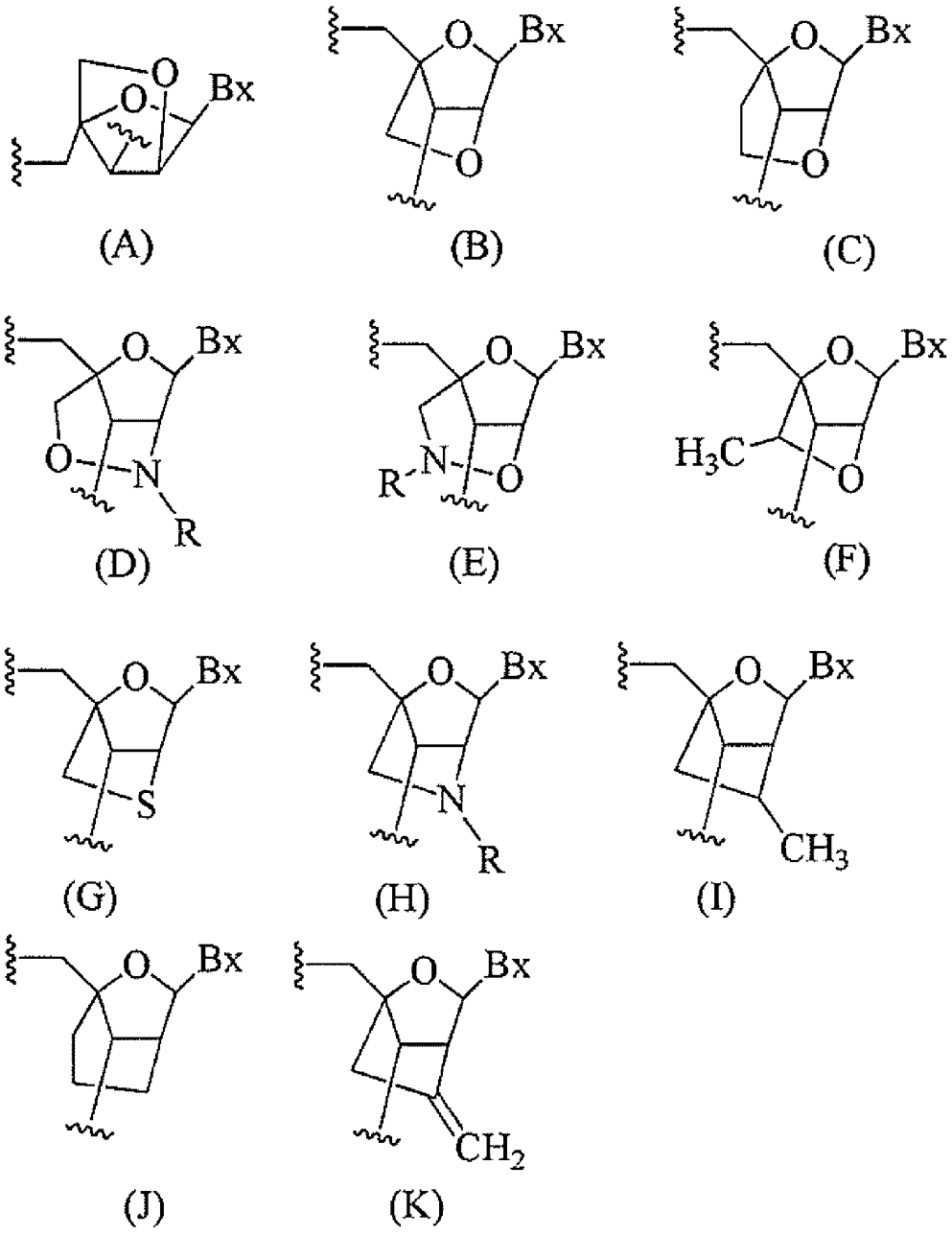
（H）メチレン－アミノ（4’－CH_2－N（R）－2’）BNA、

（I）メチル炭素環式（4’－CH_2－CH（CH_3）－2’）BNA、

（Ｊ）プロピレン炭素環式（４’－（ＣＨ$_2$）$_3$－２’）ＢＮＡ、及び

（Ｋ）ビニルＢＮＡが挙げられる。

[0280] [化20]

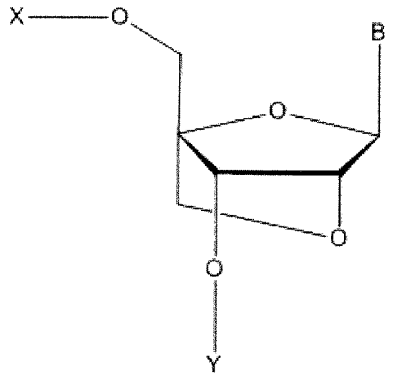


式中、Ｂｘは塩基部分であり、Ｒは独立に、保護基、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキルま

たはC_1～C_6アルコキシである。

[0281] ある種の実施態様（ＬＮＡ）では、二環式糖を有するヌクレオシドは以下の一般式：

[化21]

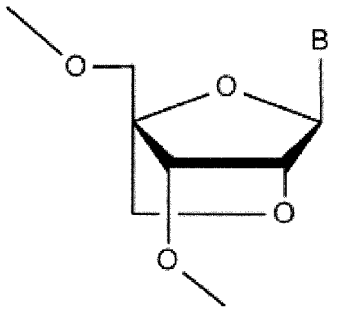


［式中、

Ｂは、核酸塩基であり；

ＸおよびＹは、それぞれ独立に、水素原子、水酸基の保護基、置換されてもよいリン酸基、リン部分または支持体への共有結合等］で表されるヌクレオシドを挙げることができる（ＷＯ９８／３９３５２を参照）。典型的な具体例は、下記式：

[化22]

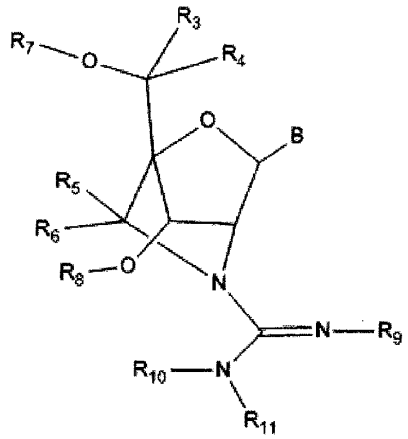


で示されるヌクレオチドを挙げることができる。

[0282] ある種の実施態様（ＧｕＮＡ）では、二環式を含むヌクレオシドは下記一

般式：

[化23]

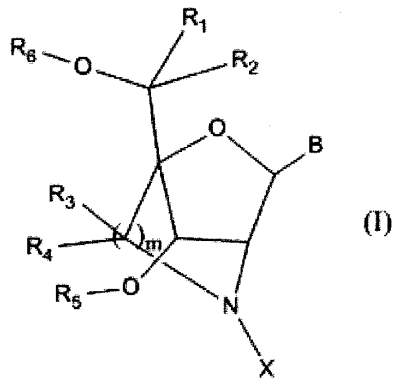


［式中、Ｂは核酸塩基であり、Ｒ３、Ｒ４、Ｒ５、Ｒ６は各々独立して水素原子、または１つ以上の置換基で置換されてもよいＣ１－６アルキル基であり、Ｒ７、Ｒ８はそれぞれ独立に、水素原子、水酸基の保護基、置換されてもよいリン酸基、リン部分または支持体への共有結合等であり、そしてＲ９、Ｒ１０、Ｒ１１は各々独立して水素原子、１つ以上の置換基で置換されてもよいＣ１－６アルキル基、またはアミノ基の保護基である。］

で表されるヌクレオシドである（例えば、国際公開第２０１４／０４６２１２号、国際公開第２０１７／０４７８１６号を参照）。

[0283] ある種の実施態様（ＡＬＮＡ［ｍＵ］）では、二環式糖を含むヌクレオシドは下記一般式（Ｉ）：

[化24]



(I)

［式中、

Ｂは、核酸塩基であり；

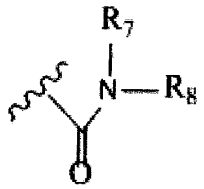
R_1、R_2、R_3およびR_4は各々独立して、水素原子、または１つ以上の置換基で置換されていてもよいC_{1-6}アルキル基であり；

R_5およびR_6は各々独立して、水素原子、水酸基の保護基、置換されてもよいリン酸基、リン部分または支持体への共有結合等であり；

ｍは、１または２であり；

Ｘは、下記式（ＩＩ－１）：

[化25]



(II-1)

で示される基であり；

式（ＩＩ－１）中に記載の記号：

[化26]



は、２’－アミノ基との結合点を示し；

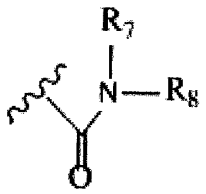
R_7およびR_8の一方が水素原子であり、他方が1つ以上の置換基で置換されてもよいメチル基である。］

で表されるヌクレオシドである（例えば、特願２０１８－２１２４２４を参照）。典型的な具体例は、R_7およびR_8の一方が水素原子であり、他方が無置換のメチル基である、ヌクレオシドである。

[0284] ある種の実施態様（ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］）では、二環式糖を含むヌクレオシドは上記のＡＬＮＡ［ｍＵ］において定義する一般式（Ｉ）を有するヌクレオシドであって、該式中、

Ｘが、下記式（ＩＩ－１）：

[化27]



(II-1)

で示される基であり；

R_7およびR_8の一方が水素原子であり、他方が１つ以上の置換基で置換されてもよいイソプロピル基である（例えば、特願２０１８－２１２４２４を参照）。典型的な具体例は、R_7およびR_8の一方が水素原子であり、他方が無置換のイソプロピル基である、ヌクレオシドである。

[0285] ある種の実施態様（ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］）では、二環式を含むヌクレオシドは上記一般式（Ｉ）を有するヌクレオシドであって、該式中、Ｘが、下記式（ＩＩ－２）：

[化28]



(II-2)

で示される基であり；

Ａが、１つ以上の置換基で置換されていてもよいトリアゾリル基である（例えば、特願２０１８－２１２４２４を参照）。ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］の典型的な具体例は、Ａが、１または複数のメチル基を有してもよいトリアゾリル基であり、より具体的には、１，５-ジメチル－１，２，４－トリアゾール－３－イル基である、ヌクレオシドである。

[0286] ある種の実施態様（ＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］）では、上記のＡＬＮＡ［ｍＵ］

において定義する一般式（Ｉ）を有するヌクレオシドであって、該式中、

Ｘが、下記式（ＩＩ－２）：

[化29]



(II-2)

で示される基であり；

Ａが、１つ以上の置換基で置換されていてもよいオキサジアゾリル基である（例えば、特願２０１８－２１２４２４を参照）。典型的な具体例は、Ａが１または複数のメチル基を有してもよいオキサジアゾリル基であり、より具体的には、５－メチル－１，２，４－オキサジアゾール－３－イル基である、ヌクレオシドまたはヌクレオチドである。

[0287] ある種の実施態様（ＡＬＮＡ［Ｍｓ］）では、二環式を含むヌクレオシドは上記一般式（Ｉ）を有するヌクレオシドであって、該式中、Ｘが、下記一般式（ＩＩ－３）：

[化30]



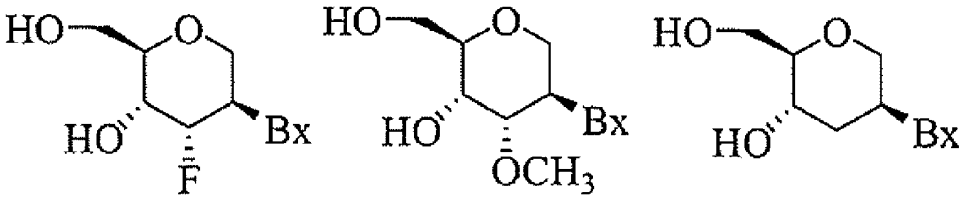
(II-3)

で示される基であり；

Ｍは、１つ以上の置換基で置換されていてもよいメチル基で置換された、スルホニル基である（例えば、特願２０１８－２１２４２４を参照）。ＡＬＮＡ［Ｍｓ］の典型的な具体例は、Ｍが無置換のメチル基で置換されたスルホニル基である、ヌクレオシドである。

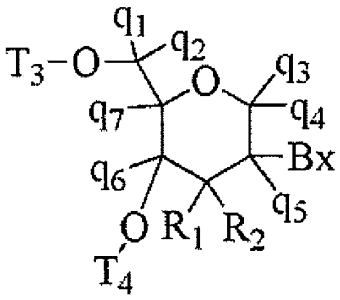
[0288] ある種の実施態様では、ヌクレオシドは、糖代用物とのリボシル環の置き換えによって修飾される。そうした修飾としては、これらに限定されないが、代用環系（ＤＮＡ類似物と言われることもある）、例えば、モルホリノ環、シクロヘキセニル環、シクロヘキシル環またはテトラヒドロピラニル環、例えば以下の式のうちの１つを有するものとのリボシル環の置き換えが挙げられる：

[化31]



[0289] ある種の実施態様では、以下の式を有する糖代用物が選択される：

[化32]



式中、

Ｂｘは複素環塩基部分であり；

T_3及びT_4はそれぞれ独立に、テトラヒドロピランヌクレオシド類似物をオリゴマー化合物に連結するヌクレオシド間連結基、またはT_3及びT_4の一方は、テトラヒドロピランヌクレオシド類似物をオリゴマー化合物もしくはオリゴヌクレオチドに連結するヌクレオシド間連結基であり、T_3及びT_4の他方は、Ｈ、ヒドロキシル保護基、連結共役基または５’もしくは３’－末端基であり；

q_1、q_2、q_3、q_4、q_5、q_6及びq_7はそれぞれ独立に、H、C_1～C_6アルキル、置換C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、置換C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニルまたは置換C_2～C_6アルキニルであり；

R_1及びR_2の一方は水素であり、他方はハロゲン、置換または無置換のアルコキシ、NJ_1J_2、SJ_1、N_3、OC（＝X）J_1、OC（＝X）NJ_1J_2、NJ_3C（＝X）NJ_1J_2及びCN（式中、XはO、SまたはNJ_1であり、各J_1、J_2及びJ_3は独立に、HまたはC_1～C_6アルキルである）から選択される。

[0290] ある種の実施態様では、q_1、q_2、q_3、q_4、q_5、q_6及びq_7はそれぞれHである。ある種の実施態様では、q_1、q_2、q_3、q_4、q_5、q_6及びq_7の少なくとも１つはH以外である。ある種の実施態様では、q_1、q_2、q_3、q_4、q_5、q_6及びq_7の少なくとも１つはメチルである。ある種の実施態様では、R_1及びR_2の一方がFであるＴＨＰヌクレオシドが提供される。ある種の実施態様では、R_1がフルオロであり、且つR_2がHであり；R_1がメトキシであり、且つR_2がHであり、及びR_1がメトキシエトキシであり、且つR_2がHである。

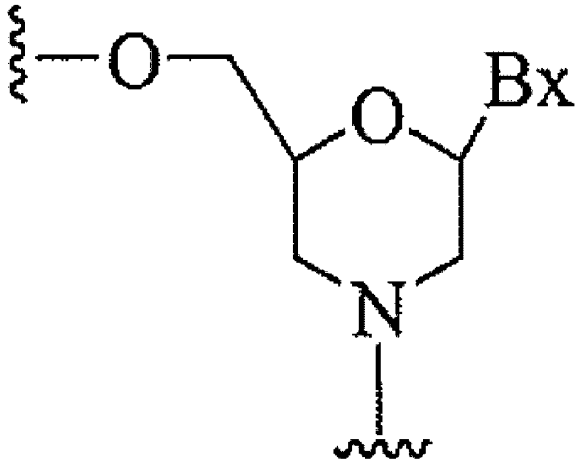
[0291] そうした糖代用物としては、これらに限定されないが、当技術分野で、ヘキシトール核酸（ＨＮＡ）、アルトリトール核酸（ＡＮＡ）及びマンニトール核酸（ＭＮＡ）と言われるものが挙げられる（Ｌｅｕｍａｎｎ，Ｃ．Ｊ．，Ｂｉｏｏｒｇ．&Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．，２００２，１０，８４１－８５４を参照されたい）。

[0292] ある種の実施態様では、糖代用物は、５つを超える原子及び１つを超えるヘテロ原子を有する環を含む。例えば、モルホリノ糖部分を含むヌクレオシド及びオリゴマー化合物でのその使用が報告されている（例えば、Ｂｒａａｓｃｈｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，２００２，４１，４５０３－４５１０；並びに米国特許５，６９８，６８５；５，１６６，３１５；５，１８５，４４４；及び５，０３４，５０６を参照されたい）。

[0293] 本明細書で使用する場合、用語「モルホリノ」は以下の構造を有する糖代

用物を意味する：

[化33]



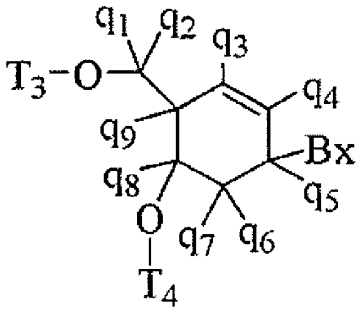
[0294] ある種の実施態様では、例えば、上記のモルホリノ構造から様々な置換基を付加するまたは変えることによって、モルホリノを修飾することができる。そうした糖代用物は、本明細書で「修飾モルホリノ」と言われる。

[0295] ある種の実施態様では、オリゴヌクレオチドは、天然に存在するヌクレオシドのペントフラノシル残基の代わりに６員シクロヘキセニルを有するヌクレオシドである、１つまたは複数の修飾シクロヘキセニルヌクレオシドを含む。修飾シクロヘキセニルヌクレオシドとしては、これらに限定されないが、当技術分野で記載されたものが挙げられる（例えば、共有に係る、２０１０年４月１０日に公開されたＷＯ２０１０／０３６６９６、Ｒｏｂｅｙｎｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，２００８，１３０（６），１９７９－１９８４；Ｈｏｒｖａｔｈｅｔ ａｌ．，ＴｅｔｒａｈｅｄｒｏｎＬｅｔｔｅｒｓ，２００７，４８，３６２１－３６２３；Ｎａｕｗｅｌａｅｒｔｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，２００７，１２９（３０），９３４０－９３４８；Ｇｕｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅｓ，Ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ＆Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ，２００５，２４（５－７），９９３－９９８；Ｎａｕｗｅｌａｅｒｔｓ ｅｔａｌ．，Ｎｕｃｌｅ

ｉｃ ＡｃｉｄｓＲｅｓｅａｒｃｈ，２００５，３３（８），２４５２－２４６３；Ｒｏｂｅｙｎｓ ｅｔ ａｌ．，Ａｃｔａ Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｉｃａ，Ｓｅｃｔｉｏｎ Ｆ：ＳｔｒｕｃｔｕｒａｌＢｉｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｃｒｙｓｔａｌｌｉｚａｔｉｏｎ Ｃｏｍｍｕｎｉｃａｔｉｏｎｓ，２００５，Ｆ６１（６），５８５－５８６；Ｇｕｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ，２００４，６０（９），２１１１－２１２３；Ｇｕｅｔ ａｌ．，Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ，２００３，１３（６），４７９－４８９；Ｗａｎｇｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，２００３，６８，４４９９－４５０５；Ｖｅｒｂｅｕｒｅｅｔ ａｌ．，ＮｕｃｌｅｉｃＡｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，２００１，２９（２４），４９４１－４９４７；Ｗａｎｇｅｔａｌ．，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，２００１，６６，８４７８－８２；Ｗａｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅｓ，Ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ ＆ Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ，２００１，２０（４－７），７８５－７８８；Ｗａｎｇｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．，２０００，１２２，８５９５－８６０２；ＷＯ０６／０４７８４２号；及びＷＯ０１／０４９６８７号を参照されたい；それぞれのテキストは参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。

[0296] ある種の修飾シクロヘキセニルヌクレオシドは以下の式を有する：

[化34]



式中、

Ｂｘは複素環塩基部分であり；

T_3及びT_4はそれぞれ独立に、シクロヘキセニルヌクレオシド類似物をオリゴヌクレオチド化合物に連結するヌクレオシド間連結基であり、またはT_3及びT_4の一方は、テトラヒドロピランヌクレオシド類似物をオリゴヌクレオチド化合物に連結するヌクレオシド間連結基であり、T_3及びT_4の他方は、H、ヒドロキシル保護基、連結共役基もしくは5’－もしくは3’－末端基であり；

q_1、q_2、q_3、q_4、q_5、q_6、q_7、q_8及びq_9はそれぞれ独立に、H、C_1～C_6アルキル、置換C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、置換C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、置換C_2～C_6アルキニルまたは他の糖置換基である。

[0297] オリゴヌクレオチドに組み込むためのヌクレオシドを修飾するのに使用することができる、多くの他の二環式及び三環式の糖代用環系が当技術分野で既知である（例えば、総説：Ｌｅｕｍａｎｎ，ＣｈｒｉｓｔｉａｎＪ．，Ｂｉｏｏｒｇ．＆Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．，２００２，１０，８４１－８５４を参照されたい）。そうした環系は、活性を増強するために様々なさらなる置換を受けることができる。

[0298] 修飾糖の調製方法は当業者に周知である。そうした修飾糖の調製を教示するいくつかの代表的なＵ．Ｓ．特許は、これらに限定されないが、Ｕ．Ｓ．：４，９８１，９５７；５，１１８，８００；５，３１９，０８０；５，３５９，０４４；５，３９３，８７８；５，４４６，１３７；５，４６６，７８６；５，５１４，７８５；５，５１９，１３４；５，５６７，８１１；５，５７６，４２７；５，５９１，７２２；５，５９７，９０９；５，６１０，３００；５，６２７，０５３；５，６３９，８７３；５，６４６，２６５；５，６７０，６３３；５，７００，９２０；５，７９２，８４７及び６，６００，０３２並びにＷＯ２００５／１２１３７１号が挙げられ、これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

[0299] 修飾糖部分を有するヌクレオチドでは、核酸塩基部分（天然、修飾またはそれらの組み合わせ）は、適切な核酸標的とのハイブリダイゼーションの間

維持される。

[0300] 修飾核酸塩基

核酸塩基（または塩基）の修飾または置換は、天然に存在するまたは合成の非修飾核酸塩基と構造的に識別可能であり、こうした非修飾核酸塩基とさらに機能的に互換性がある。天然及び修飾核酸塩基の両方とも、水素結合に関与することができる。そうした核酸塩基修飾は、ヌクレアーゼ安定性、結合親和性またはいくつかの他の有益な生物学的特性を修飾オリゴヌクレオチドに与えることができる。修飾核酸塩基は、例えば５－メチルシトシン（５－ｍｅ－Ｃ）などの合成及び天然の核酸塩基を含む。５－メチルシトシン置換を含めたある種の核酸塩基置換は、標的核酸に対する修飾オリゴヌクレオチドの結合親和性を増大させるのに特に有用である。例えば、５－メチルシトシン置換は、核酸の二本鎖安定性を０．６～１．２℃増大させることが示されている（Ｓａｎｇｈｖｉ，Ｙ．Ｓ．，Ｃｒｏｏｋｅ，Ｓ．Ｔ．ａｎｄ Ｌｅｂｌｅｕ，Ｂ．，ｅｄｓ．，Ａｎｔｉｓｅｎｓｅ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ，Ｂｏｃａ Ｒａｔｏｎ，１９９３，ｐｐ．２７６－２７８）。

[0301] さらなる修飾核酸塩基としては、５－ヒドロキシメチルシトシン、キサンチン、ヒポキサンチン、２－アミノアデニン、アデニン及びグアニンの６－メチル及び他のアルキル誘導体、アデニン及びグアニンの２－プロピル及び他のアルキル誘導体、２－チオウラシル、２－チオチミン及び２－チオシトシン、５－ハロウラシル及びシトシン、５－プロピニル（－Ｃ≡Ｃ－CH_3）ウラシル及びシトシン並びにピリミジン塩基の他のアルキニル誘導体、６－アゾウラシル、シトシン及びチミン、５－ウラシル（シュードウラシル）、４－チオウラシル、８－ハロ、８－アミノ、８－チオール、８－チオアルキル、８－ヒドロキシル及び他の８－置換アデニン及びグアニン、５－ハロ、特に５－ブロモ、５－トリフルオロメチル及び他の５－置換ウラシル及びシトシン、７－メチルグアニン及び７－メチルアデニン、２－Ｆ－アデニン、２－アミノ－アデニン、８－アザグアニン及び８－アザアデニン、７－デア

ザグアニン及び７－デアザアデニン、３－デアザグアニン及び３－デアザアデニンが挙げられる。

[0302] 複素環塩基部分は、プリンまたはピリミジン塩基が他の複素環、例えば、７－デアザ－アデニン、７－デアザグアノシン、２－アミノピリジン及び２－ピリドンで置き換えられているものを含むこともできる。修飾オリゴヌクレオチドの結合親和性を増大させるのに特に有用な核酸塩基としては、５－置換ピリミジン、６－アザピリミジン及びＮ－２、Ｎ－６及びＯ－６置換プリン（２－アミノプロピルアデニン、５－プロピニルウラシル及び５－プロピニルシトシンを含める）が挙げられる。

[0303] ある種の実施態様では、ＤＵＸ４核酸を標的とする修飾オリゴヌクレオチドは、１つまたは複数の修飾核酸塩基を含む。ある種の実施態様では、ＤＵＸ４核酸を標的とする修飾オリゴヌクレオチドは、１つまたは複数の修飾核酸塩基を含む。ある種の実施態様では、修飾核酸塩基は５－メチルシトシンである。ある種の実施態様では、各シトシンは５－メチルシトシンである。

[0304] ある種の修飾オリゴヌクレオチドモチーフ

ある種の実施態様では、ＤＵＸ４核酸を標的とする修飾オリゴヌクレオチドは、修飾オリゴヌクレオチドに、阻害活性の増強、標的核酸に対する結合親和性の増大またはインビボヌクレアーゼによる分解に対する抵抗性などの特性を与えるために、パターンまたはモチーフに配置される化学修飾サブユニットを有する。

[0305] キメラ修飾オリゴヌクレオチドは、ヌクレアーゼによる分解に対する抵抗性の増大、細胞取り込みの増大、標的核酸に対する結合親和性の増大及び／または阻害活性の増大を与えるために、典型的には少なくとも１つの修飾領域を含む。キメラ修飾オリゴヌクレオチドの第二領域は、ＲＮＡ：ＤＮＡ二本鎖のＲＮＡ鎖を切断する細胞内エンドヌクレアーゼＲＮａｓｅ　Ｈに対する基質として任意に働くことができる。

[0306] ギャップマーモチーフを有する修飾オリゴヌクレオチドは、キメラ修飾オリゴヌクレオチドである。ギャップマーでは、ＲＮａｓｅＨ切断を支援する

複数のヌクレオチドを有する内部領域は、内部領域のヌクレオシドと化学的に異なる複数のヌクレオチドを有する外部領域間に位置する。ギャップマーモチーフを有する修飾オリゴヌクレオチドの場合には、ギャップセグメントは、エンドヌクレアーゼによる切断の基質として一般に働くが、ウイングセグメントは修飾ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマー領域は、それぞれ異なる領域を含む糖部分のタイプによって区別される。いくつかの実施態様では、ギャップマー領域を区別するのに使用される糖部分のタイプは、β－Ｄ－リボヌクレオシド、β－Ｄ－デオキシリボヌクレオシド、２’－修飾ヌクレオシド（このような２’－修飾ヌクレオシドは、中でも、２’－ＭＯＥ及び２’－Ｏ－CH_3を含むことができる）並びに二環式糖修飾ヌクレオシド（このような二環式糖修飾ヌクレオシドは、ＬＮＡ、ＧｕＮＡ、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］、ＡＬＮＡ［ｍＵ］、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］、ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］及び／またはＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］を有するものを含むことができる）を含むことができる。ウイング－ギャップ－ウイングモチーフは、「Ｘ－Ｙ－Ｚ」としてしばしば記載され、「Ｘ」は５’ウイング領域の長さを表し、「Ｙ」はギャップ領域の長さを表し、「Ｚ」は３’ウイング領域の長さを表す。本明細書で使用する場合、「Ｘ－Ｙ－Ｚ」として記載されるギャップマーは、ギャップセグメントが５’ウイングセグメント及び３’ウイングセグメントのそれぞれに直接隣接する位置するような立体配置を有する。したがって、５’ウイングセグメントとギャップセグメントの間またはギャップセグメントと３’ウイングセグメントの間に、介在性ヌクレオチドは存在しない。本明細書に記載の修飾オリゴヌクレオチドのうちのいずれかは、ギャップマーモチーフを有し得る。いくつかの実施態様ではＸとＺは同じであり、他の実施態様ではこれらは異なる。好ましい実施態様では、Ｙは８から１６個のヌクレオチドである。Ｘ、ＹまたはＺは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２５、３０個またはそれ以上のヌクレオチドのいずれかであり得る。したがって、ギャップマーとしては、これらに限定されないが、例

えば、２－１０－３、２－１４－２、２－１５－２、２－１６－２、３－６－７、３－７－５、３－８－３、３－８－４、３－８－５、３－９－２、３－９－３、３－９－４、３－９－５、３－９－８、３－１０－２、３－１０－３、３－１０－４、３－１１－３、３－１２－３、３－１４－３、４－７－４、４－７－５、４－８－３、４－８－４、４－９－３、４－１０－３、５－６－４、５－６－５、５－７－３、５－７－４、５－８－３、５－８－４、または７－６－３が挙げられる。

[0307] ある種の実施態様では、ＤＵＸ４核酸を標的とする修飾オリゴヌクレオチドは３－１０－３ギャップマーモチーフを持つ。ある種の実施態様では、ＤＵＸ４核酸を標的とする修飾オリゴヌクレオチドは３－９－３ギャップマーモチーフを持つ。ある種の実施態様では、ＤＵＸ４核酸を標的とする修飾オリゴヌクレオチドは３－９－４ギャップマーモチーフを持つ。ある種の実施態様では、ＤＵＸ４核酸を標的とする修飾オリゴヌクレオチドは３－８－５ギャップマーモチーフを持つ。

[0308] ある種の実施態様では、これらのギャップマーの修飾オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載の例示的修飾オリゴヌクレオチドのいずれかの核酸塩基配列の少なくとも１２、少なくとも１３、少なくとも１４、少なくとも１５、少なくとも１６、少なくとも１７、少なくとも１８、少なくとも１９、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、少なくとも２５、少なくとも２６、少なくとも２７、少なくとも２８、少なくとも２９または、少なくとも３０個の連続的な核酸塩基（例えば、配列表の配列番号２，３，４、７～６４、６９～９７または１０２～１１２のいずれか１つに記載される核酸塩基配列の少なくとも８個の連続的な核酸塩基）を含む。

[0309] ある種の実施態様では、本発明はオリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物を提供する。ある種の実施態様では、そうしたオリゴヌクレオチドは、１つまたは複数の化学修飾を含む。ある種の実施態様では、化学修飾オリゴヌクレオチドは１つまたは複数の修飾糖を含む。ある種の実施態様では、化

学修飾オリゴヌクレオチドは１つまたは複数の修飾核酸塩基を含む。ある種の実施態様では、化学修飾オリゴヌクレオチドは１つまたは複数の修飾ヌクレオシド間結合を含む。ある種の実施態様では、化学修飾（糖修飾、核酸塩基修飾及び／または結合修飾）は、パターンまたはモチーフを定める。ある種の実施態様では、糖部分、ヌクレオシド間結合及び核酸塩基の化学修飾のパターンは、それぞれ互いに無関係である。したがって、オリゴヌクレオチドは、その糖修飾モチーフ、ヌクレオシド間結合モチーフ及び／または核酸塩基修飾モチーフによって説明され得る（本明細書で使用する場合、核酸塩基修飾モチーフは、核酸塩基の配列と無関係で、核酸塩基に対する化学修飾を説明する）。

[0310] ある種の糖モチーフ

ある種の実施態様では、オリゴヌクレオチドは、定められたパターンまたは糖修飾モチーフにおいてオリゴヌクレオチドまたはその領域に沿って配置された、１または複数のタイプの修飾糖部分及び／または天然に存在する糖部分を含む。そうしたモチーフは、本明細書に論じる糖修飾及び／または他の既知の糖修飾のいずれかを含むことができる。

[0311] ある種の実施態様では、オリゴヌクレオチドは、ギャップマー糖修飾モチーフを有する領域を含むか、その領域から成り、これは、２つの外部領域、すなわち「ウイングセグメント」、及び１つの内部領域、すなわち「ギャップセグメント」を含む。ギャップマーモチーフの３領域（５’ウイングセグメント、ギャップセグメント及び３’ウイングセグメント）は、ヌクレオシドの連続的な配列を形成し、ここでは、各ウイングセグメントのヌクレオシドの糖部分の少なくともいくつかは、ギャップセグメントのヌクレオシドの糖部分の少なくともいくつかと異なる。特に、少なくとも、ギャップセグメントに最も近い各ウイングセグメントのヌクレオシド（５’ウイングセグメントの最も３’側のヌクレオシド及び３’ウイングセグメントの最も５’側のヌクレオシド）の糖部分は、隣接したギャップセグメントのヌクレオシドの糖部分とは異なり、したがってウイングセグメントとギャップセグメント

の間の境界部位を定める。ある種の実施態様では、ギャップセグメント内の糖部分は互いに同じである。ある種の実施態様では、ギャップセグメントは、ギャップセグメントの１つまたは複数の他のヌクレオシドの糖部分と異なる糖部分を有する１つまたは複数のヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、２つのウイングセグメントの糖修飾モチーフは互いに同じである（対称的ギャップマー）。ある種の実施態様では、５’ウイングセグメントの糖修飾モチーフは、３’ウイングセグメントの糖修飾モチーフと異なる（非対称的ギャップマー）。

[0312] ある種の５’ウイングセグメント

ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、１つから５つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、２つから５つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、３つから５つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、４つまたは５つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、１つから４つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、１つから３つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、１つまたは２つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、２つから４つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、２つまたは３つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、３つまたは４つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、１つのヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、２つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマー

の５’ウイングセグメントは、３つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、４つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、５つの連結したヌクレオシドから成る。

[0313] ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、少なくとも１つの二環式ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、少なくとも２つの二環式ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、少なくとも３つの二環式ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、少なくとも４つの二環式ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、少なくとも１つの拘束エチルヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、少なくとも１つのＬＮＡ含有ヌクレオシド、ＧｕＮＡ含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｍＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］含有ヌクレオシド及び／またはＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントの各ヌクレオシドは二環式ヌクレオシドである。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントの各ヌクレオシドは拘束エチルヌクレオシドである。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントの各ヌクレオシドはＬＮＡ含有ヌクレオシド、ＧｕＮＡ含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｍＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］含有ヌクレオシド及び／またはＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］含有ヌクレオシドである。

[0314] ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、少なくとも１つの非二環式修飾ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、少なくとも１つの２’－置換ヌク

レオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、少なくとも１つ、例えば、３つ、４つ、または５つの２’－ＭＯＥヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、少なくとも１つの２’－ＯＭｅヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントの各ヌクレオシドは非二環式修飾ヌクレオシドである。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントの各ヌクレオシドは２’－置換ヌクレオシドである。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントの各ヌクレオシドは２’－ＭＯＥヌクレオシドである。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントの各ヌクレオシドは２’－ＯＭｅヌクレオシドである。

[0315] ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、少なくとも１つの二環式ヌクレオシド及び少なくとも１つの非二環式修飾ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、少なくとも１つの二環式ヌクレオシド及び少なくとも１つの２’－置換ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、少なくとも１つの二環式ヌクレオシド及び少なくとも１つの２’－ＭＯＥヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、少なくとも１つの二環式ヌクレオシド及び少なくとも１つの２’－ＯＭｅヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、少なくとも１つの二環式ヌクレオシド及び少なくとも１つの２’－デオキシヌクレオシドを含む。

[0316] ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、少なくとも１つの拘束エチルヌクレオシド及び少なくとも１つの非二環式修飾ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、少なくとも１つの拘束エチルヌクレオシド及び少なくとも１つの２’－置換ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、少なくとも１つの拘束エチルヌクレオシド及び

少なくとも１つの２’－ＭＯＥヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、少なくとも１つの拘束エチルヌクレオシド及び少なくとも１つの２’－ＯＭｅヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、少なくとも１つの拘束エチルヌクレオシド及び少なくとも１つの２’－デオキシヌクレオシドを含む。

[0317] ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、２’－ＭＯＥヌクレオシド、２’－ＯＭｅヌクレオシド、ＬＮＡ含有ヌクレオシド、ＧｕＮＡ含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｍＵ含有ヌクレオシド］、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］含有ヌクレオシド及び／またはＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］含有ヌクレオシドから選択される少なくとも１つの修飾ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、２’－ＭＯＥヌクレオシド、２’－ＯＭｅヌクレオシド、ＬＮＡ含有ヌクレオシド、ＧｕＮＡ含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｍＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］含有ヌクレオシド及び／またはＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］含有ヌクレオシドから選択される少なくとも２つの修飾ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、２’－ＭＯＥヌクレオシド、２’－ＯＭｅヌクレオシド、ＬＮＡ含有ヌクレオシド、ＧｕＮＡ含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｍＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］含有ヌクレオシド及び／またはＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］含有ヌクレオシドから選択される少なくとも３つの修飾ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、２’－ＭＯＥヌクレオシド、２’－ＯＭｅヌクレオシド、ＬＮＡ含有ヌクレオシド、ＧｕＮＡ含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｍＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］含

有ヌクレオシド及び／またはＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］含有ヌクレオシドから選択される少なくとも４つの修飾ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、２’－ＭＯＥヌクレオシド、２’－ＯＭｅヌクレオシド、ＬＮＡ含有ヌクレオシド、ＧｕＮＡ含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｍＵ含有ヌクレオシド］、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］含有ヌクレオシド及び／またはＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］含有ヌクレオシドから選択される少なくとも５つの修飾ヌクレオシドを含む。

[0318] ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、２つのＬＮＡ含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、３つのＬＮＡ含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、４つのＬＮＡ含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、２つのＧｕＮＡ含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、３つのＧｕＮＡ含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、３つのＡＬＮＡ［ｍＵ］含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、３つのＡＬＮＡ［ｉｐＵ］含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、２つのＬＮＡ含有ヌクレオシドと１つのＧｕＮＡ含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、３つのＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドと１つの２’－ＯＭｅヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドと２つの２’－ＯＭｅヌクレオシドを含む。

[0319] ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、３つの拘束エチルヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、２つの二環式ヌクレオシド及び２つの非二環式修飾ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、２つの拘束エチルヌクレオシド及び２つの２’－ＯＭｅヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、２つの二環式ヌクレオシド及び２つの非二環式修飾ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、２つの拘束エチルヌクレオシド及び２つの２’－ＯＭｅヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、２つの拘束エチルヌクレオシド及び３つの２’－ＯＭｅヌクレオシドを含む。

[0320] ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは１つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは２つの連結したＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは３つの連結したＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは４つの連結したＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは５つの連結したＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは連結した、１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド及び1つの２’－ＯＭｅヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは連結した、１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド及び２つの２’－ＯＭｅヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは連結した、１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド及び３つの２’－ＯＭｅヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギ

ャップマーの５’ウイングセグメントは、連結した、３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドと１つの２’－ＭＯＥヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、連結した、２つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドと２つの２’－ＭＯＥヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、連結した、３つのＬＮＡ含有ヌクレオシドと２つの２’－ＭＯＥヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、連結した、２つのＬＮＡ含有ヌクレオシドと２つの２’－ＭＯＥヌクレオシドからなる。

ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは連結した１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなり、かつ１個の５－メチルシトシンを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは連結した１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなり、かつ２個の５－メチルシトシンを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは連結した１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなり、かつ３個の５－メチルシトシンを含む。

[0321] ある種の３’ウイングセグメント

ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、１つから８つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、２つから５つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、３つから５つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、４つまたは５つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、１つから４つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、１つから３つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’

ウイングセグメントは、１つまたは２つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、２つから４つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、２つまたは３つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、３つまたは４つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、１つのヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、２つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、３つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、４つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、５つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、６つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、７つの連結したヌクレオシドから成る。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、８つの連結したヌクレオシドから成る。

[0322] ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、少なくとも１つの二環式ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、少なくとも２つの二環式ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、少なくとも３つの二環式ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、少なくとも４つの二環式ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、少なくとも１つの拘束エチルヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、少なくとも１つのＬＮＡ含有ヌクレオシド、ＧｕＮＡ含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレ

オシド、ＡＬＮＡ［ｍＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］含有ヌクレオシド及び／またはＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントの各ヌクレオシドは二環式ヌクレオシドである。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントの各ヌクレオシドは拘束エチルヌクレオシドである。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントの各ヌクレオシドはＬＮＡ含有ヌクレオシド、ＧｕＮＡ含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｍＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］含有ヌクレオシド及び／またはＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］含有ヌクレオシドである。

[0323] ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、少なくとも１つの非二環式修飾ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、少なくとも１つの２’－置換ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、少なくとも１つの２’－ＭＯＥヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、少なくとも１つの２’－ＯＭｅヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントの各ヌクレオシドは非二環式修飾ヌクレオシドである。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントの各ヌクレオシドは２’－置換ヌクレオシドである。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントの各ヌクレオシドは２’－ＭＯＥヌクレオシドである。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントの各ヌクレオシドは２’－ＯＭｅヌクレオシドである。

[0324] ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、少なくとも１つの二環式ヌクレオシド及び少なくとも１つの非二環式修飾ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、少なくとも１つの二環式ヌクレオシド及び少なくとも１つの２’－

置換ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、少なくとも１つの二環式ヌクレオシド及び少なくとも１つの２’－ＭＯＥヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、少なくとも１つの二環式ヌクレオシド及び少なくとも１つの２’－ＯＭｅヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、少なくとも１つの二環式ヌクレオシド及び少なくとも１つの２’－デオキシヌクレオシドを含む。

[0325] ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、少なくとも１つの拘束エチルヌクレオシド及び少なくとも１つの非二環式修飾ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、少なくとも１つの拘束エチルヌクレオシド及び少なくとも１つの２’－置換ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、少なくとも１つの拘束エチルヌクレオシド及び少なくとも１つの２’－ＭＯＥヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、少なくとも１つの拘束エチルヌクレオシド及び少なくとも１つの２’－ＯＭｅヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、少なくとも１つの拘束エチルヌクレオシド及び少なくとも１つの２’－デオキシヌクレオシドを含む。

[0326] ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、２’－ＭＯＥヌクレオシド、２’－ＯＭｅヌクレオシド、ＬＮＡ含有ヌクレオシド、ＧｕＮＡ含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｍＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］含有ヌクレオシド及び／またはＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］含有ヌクレオシドから選択される少なくとも１つの修飾ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、２’－ＭＯＥヌクレオシド、２’－ＯＭｅヌクレオシド、ＬＮＡ含有ヌクレオシド、ＧｕＮＡ含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［

ｍＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］含有ヌクレオシド及び／またはＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］含有ヌクレオシドから選択される少なくとも２つの修飾ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、２’－ＭＯＥヌクレオシド、２’－ＯＭｅヌクレオシド、ＬＮＡ含有ヌクレオシド、ＧｕＮＡ含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｍＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］含有ヌクレオシド及び／またはＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］含有ヌクレオシドから選択される少なくとも３つの修飾ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、２’－ＭＯＥヌクレオシド、２’－ＯＭｅヌクレオシド、ＬＮＡ含有ヌクレオシド、ＧｕＮＡ含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｍＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］含有ヌクレオシド及び／またはＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］含有ヌクレオシドから選択される少なくとも４つの修飾ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、２’－ＭＯＥヌクレオシド、２’－ＯＭｅヌクレオシド、ＬＮＡ含有ヌクレオシド、ＧｕＮＡ含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｍＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］含有ヌクレオシド及び／またはＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］含有ヌクレオシドから選択される少なくとも５つの修飾ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、２’－ＭＯＥヌクレオシド、２’－ＯＭｅヌクレオシド、ＬＮＡ含有ヌクレオシド、ＧｕＮＡ含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｍＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］含有ヌクレオシド及び／またはＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］含有ヌクレオシドから選択される少なくとも６つの修飾ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、２’－ＭＯＥヌクレオシド、２’－ＯＭｅヌ

クレオシド、ＬＮＡ含有ヌクレオシド、ＧｕＮＡ含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｍＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］含有ヌクレオシド及び／またはＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］含有ヌクレオシドから選択される少なくとも７つの修飾ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、２’－ＭＯＥヌクレオシド、２’－ＯＭｅヌクレオシド、ＬＮＡ含有ヌクレオシド、ＧｕＮＡ含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｍＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］含有ヌクレオシド、ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］含有ヌクレオシド及び／またはＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］含有ヌクレオシドから選択される少なくとも８つの修飾ヌクレオシドを含む。

[0327] ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、２つのＬＮＡ含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、３つのＬＮＡ含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、４つのＬＮＡ含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、２つのＧｕＮＡ含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、３つのＧｕＮＡ含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、３つのＡＬＮＡ［ｍＵ］含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、３つのＡＬＮＡ［ｉｐＵ］含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングは、２つのＬＮＡ含有ヌクレオシドと１つのＧｕＮＡ含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、３つのＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドと１

つの２’－ＯＭｅヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドと２つの２’－ＯＭｅ含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、３つの２’－ＭＯＥヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、４つの２’－ＭＯＥヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、５つの２’－ＭＯＥを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドと１つの２’－ＭＯＥ含有ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドと２つの２’－ＭＯＥヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、２つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドと２つの２’－ＭＯＥヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、２つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドと３つの２’－ＭＯＥヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドと５つの２’－ＭＯＥヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、１つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドと３つの２’－ＭＯＥヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、２つのＬＮＡ含有ヌクレオシドと２つの２’－ＭＯＥヌクレオシドを含む。

[0328] ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、３つの拘束エチルヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、２つの二環式ヌクレオシド及び２つの非二環式修飾ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、２つの拘束エチルヌクレオシド及び２つの２’－ＯＭｅヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイング

セグメントは、２つの二環式ヌクレオシド及び２つの非二環式修飾ヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、２つの拘束エチルヌクレオシド及び２つの２’－ＯＭｅヌクレオシドを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、２つの拘束エチルヌクレオシド及び３つの２’－ＯＭｅヌクレオシドを含む。

[0329] ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは１つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは連結した２つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは連結した３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは連結した４つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは連結した５つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは連結した３、４または５つの２’－ＭＯＥヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、連結した、1、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド及び１つの２’－ＯＭｅヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、連結した、１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド及び２つの２’－ＯＭｅヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、連結した、１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド及び３つの２’－ＯＭｅヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、連結した、１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド及び１つの２’－ＭＯＥヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、連結した、１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド及び２つの２’－Ｍ

ＯＥヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、連結した、１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド及び３つの２’－ＭＯＥヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、連結した、１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド及び５つの２’－ＭＯＥヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは、連結した、２つのＬＮＡ含有ヌクレオシド及び２つの２’－ＭＯＥヌクレオシドからなる。

ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは連結した１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなり、かつ１個の５－メチルシトシンを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは連結した１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなり、かつ２個の５－メチルシトシンを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは連結した１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなり、かつ３個の５－メチルシトシンを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの３’ウイングセグメントは連結した１、２、３、４または５つの２’－ＭＯＥヌクレオシドからなり、かつ１個の５－メチルシトシンを含む。

[0330] ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは１つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなり、かつ３’ウイングセグメントは1つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは連結した２つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなり、かつ３’ウイングセグメントは連結した２つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなる。ある種の実施態様でセグメントは、ギャップマーの５’ウイングセグメントは連結した３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなり、かつ３’ウイングセグメントは連結した３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは連結した４つのＡＬＮＡ［Ｍ

ｓ］含有ヌクレオシドからなり、かつ３’ウイングセグメントは連結した４つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは連結した５つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなり、かつ３’ウイングセグメントは連結した５つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなる。

ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、連結した、１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド及び１つの２’－ＯＭｅヌクレオシドからなり、かつ３’ウイングセグメントは、連結した、１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド及び１つの２’－ＯＭｅヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、連結した、１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド及び２つの２’－ＯＭｅヌクレオシドからなり、かつ３’ウイングセグメントは、連結した、１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド及び連結した２つの２’－ＯＭｅヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、連結した、１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド及び３つの２’－ＯＭｅヌクレオシドからなり、かつ３’ウイングセグメントは、連結した、１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド及び３つの２’－ＯＭｅヌクレオシドからなる。

ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、連結した、１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド及び１または２つの２’－ＭＯＥヌクレオシドからなり、かつ３’ウイングセグメントは、連結した、１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド及び１または２つの２’ＭＯＥヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、連結した、１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなり、かつ３’ウイングセグメントは、連結した、１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド及び１、２または３つの２’－ＭＯＥヌクレオシドからなる。ある種の実施態様で

は、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、連結した、１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなり、かつ３’ウイングセグメントは、連結した、１、２、３、４または５つの２’－ＭＯＥヌクレオシドからなる。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、連結した、１、２、３、４または５つの２’－ＭＯＥヌクレオシドからなり、かつ３’ウイングセグメントは、連結した、１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］からなる。

ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、連結した１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなり、かつ１個の５－メチルシトシンを含み、さらにギャップマーの３’ウイングセグメントは、連結した１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなり、かつ１個の５－メチルシトシンを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、連結した１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなり、かつ２個の５－メチルシトシンを含み、さらにギャップマーの３’ウイングは、連結した１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなり、かつ１個の５－メチルシトシンを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、連結した１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなり、かつ２個の５－メチルシトシンを含み、さらにギャップマーの３’ウイングセグメントは、連結した１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなり、かつ２個の５－メチルシトシンを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、連結した１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなり、かつ３個の５－メチルシトシンを含み、さらにギャップマーの３’ウイングセグメントは、連結した１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなり、かつ３個の５－メチルシトシンを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、連結した１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなり、かつ１個の５－メチルシトシンを含み、さらに

ギャップマーの３’ウイングセグメントは、連結した１、２、３、４または５つの２’－ＭＯＥヌクレオシドからなり、かつ１個の５－メチルシトシンを含む。ある種の実施態様では、ギャップマーの５’ウイングセグメントは、連結した１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなり、さらにギャップマーの３’ウイングセグメントは、連結した１、２または３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシド及び１、２または３つの２’－ＭＯＥヌクレオシドからなり、かつ１個の５－メチルシトシンを含む。

[0331] ある種の実施態様では、ギャップマーのギャップセグメントは１０個の連続したヌクレオシドを含み、１、２、３、４、５、６、７、８、９または１０番目のいずれかのヌクレオシドにおいて２’－ＯＭｅヌクレオシドを含み、残りのヌクレオシドはデオキシヌクレオシドである。

[0332] 医薬組成物を製剤化するための組成物及び方法

医薬組成物または製剤の調製のために、修飾オリゴヌクレオチドを１つ以上の医薬的に許容可能な活性または不活性な物質と混合することができる。医薬組成物の製剤化のための組成物及び方法は、これらに限定されないが、投与経路、疾患の程度または投与される用量を含めたいくつかの判断基準によって決まる。

[0333] 適切な医薬的に許容可能な希釈剤または担体と修飾オリゴヌクレオチドを組み合わせることにより、ＤＵＸ４核酸を標的とする修飾オリゴヌクレオチドを医薬組成物中で利用することができる。医薬的に許容可能な希釈剤としては、リン酸緩衝食塩水（ＰＢＳ）が挙げられる。ＰＢＳは、非経口的に送達される組成物中で使用するのに適した希釈剤である。したがって、一実施態様では、ＤＵＸ４核酸を標的とする修飾オリゴヌクレオチド及び医薬的に許容可能な希釈剤を含む医薬組成物が、本明細書に記載の方法で用いられる。ある種の実施態様では、医薬的に許容可能な希釈剤はＰＢＳである。

[0334] 修飾オリゴヌクレオチドを含む医薬組成物は、ヒトを含めた動物に投与する際に、生物学的に活性な代謝物またはその残存物を（直接的または間接的に）提供することができる、任意の医薬的に許容可能な塩、エステルもしく

はそうしたエステルの塩または任意の他のオリゴヌクレオチドを包含する。したがって、例えば、本開示は、修飾オリゴヌクレオチドの医薬的に許容可能な塩、プロドラッグ、そうしたプロドラッグの医薬的に許容可能な塩及び他の生物学的同等物にも関する。適切な医薬的に許容可能な塩としては、これらに限定されないが、ナトリウム塩及びカリウム塩が挙げられる。

[0335] プロドラッグは、活性な修飾オリゴヌクレオチドを形成するために、体内で内在性ヌクレアーゼにより切断される修飾オリゴヌクレオチドの一端または両端に付加的なヌクレオシドを組み込むことを含むことができる。

[0336] 共役修飾オリゴヌクレオチド

修飾オリゴヌクレオチドを、得られた修飾オリゴヌクレオチドの活性、細胞分布または細胞取り込みを増強する１つまたは複数の部分または共役物に共有結合することができる。典型的な共役基としては、コレステロール部分及び脂質部分が挙げられる。さらなる共役基としては、炭水化物、リン脂質、ビオチン、フェナジン、葉酸、フェナントリジン、アントラキノン、アクリジン、フルオレセイン、ローダミン、クマリン及び色素が挙げられる。

[0337] 例えばヌクレアーゼ安定性などの特性を増強するために、修飾オリゴヌクレオチドの一末端または両末端に一般に結合している１つまたは複数の安定化基を有するように、修飾オリゴヌクレオチドを修飾することもできる。キャップ構造は安定化基に含まれる。これらの末端修飾は、末端核酸を有する修飾オリゴヌクレオチドをエキソヌクレアーゼによる分解から保護し、細胞内の送達及び／または局在化に役立ち得る。キャップは、５’末端（５’キャップ）または３’末端（３’キャップ）に存在してもよいし、両末端に存在してもよい。キャップ構造は当技術分野で周知であり、例えば、逆位デオキシ脱塩基キャップが挙げられる。ヌクレアーゼ安定性を与えるために修飾オリゴヌクレオチドの一端または両端をキャップするのに使用することができるさらなる３’及び５’安定化基としては、ＷＯ０３／００４６０２に開示されたものが挙げられる。

[0338] 細胞培養及び修飾オリゴヌクレオチド処理

ＤＵＸ４核酸のレベル、活性または発現に対する修飾オリゴヌクレオチドの効果は、様々な細胞型においてインビトロで試験することができる。そうした解析に使用する細胞型は、商業的供給業者（例えば、アメリカ培養細胞系統保存機関、Ｍａｎａｓｓｕｓ、ＶＡ；Ｚｅｎ－Ｂｉｏ，Ｉｎｃ．、Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｔｒｉａｎｇｌｅ　Ｐａｒｋ、ＮＣ；Ｃｌｏｎｅｔｉｃｓ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ、Ｗａｌｋｅｒｓｖｉｌｌｅ、ＭＤ）から入手可能であり、細胞は、市販の試薬（例えば、ＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎＬｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ）を使用して、供給業者の説明書に従って培養される。例示的な細胞型としては、これらに限定されないが、Ｃ２Ｃ１２細胞、ＨｅｐＧ２細胞、Ｈｅｐ３Ｂ細胞、初代肝細胞、Ａ５４９細胞、ＧＭ０４２８１線維芽細胞及びＬＬＣ－ＭＫ２細胞が挙げられる。これらの細胞は、ヒトＤＵＸ４　ｍＲＮＡを発現するベクターをトランスフェクションして使用することができる。ベクターとしては、ルシフェラーゼやＧＦＰなどのレポーター遺伝子と融合蛋白質として発現することが好ましく、例えば、ｐｓｉＣＨＥＣＫ－２　ｖｅｃｔｏｒ（Ｐｒｏｍｅｇａ）が挙げられる。

[0339] 修飾オリゴヌクレオチドのインビトロ試験

修飾オリゴヌクレオチドで細胞を処理する方法が本明細書に記載され、これは、修飾オリゴヌクレオチドの種類に応じて適切に改変することができる。

[0340] 一般に、培養中に細胞が約６０～８０％コンフルエンスに到達時に、細胞を修飾オリゴヌクレオチドで処理する。

[0341] 修飾オリゴヌクレオチドは例えばリポフェクション法で細胞に導入される。

修飾オリゴヌクレオチドを培養細胞に導入するのに一般に使用される一試薬としては、カチオン性脂質トランスフェクション試薬のＬＩＰＯＦＥＣＴＩＮ（登録商標）（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ）が挙げられる。修飾オリゴヌクレオチドを、ＯＰＴＩ－ＭＥＭ（登録商標）１（

Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ＣａｒＩｓｂａｄ、ＣＡ）中でＬＩＰＯＦＥＣＴＩＮ（登録商標）と混合して、修飾オリゴヌクレオチドの所望の終濃度及び典型的には１００ｎＭ修飾オリゴヌクレオチドあたり２～１２μｇ／ｍＬに及ぶＬＩＰＯＦＥＣＴＩＮ（登録商標）濃度を得る。

[0342] 修飾オリゴヌクレオチドを培養細胞に導入するのに使用される別の試薬としては、ＬＩＰＯＦＥＣＴＡＭＩＮＥ２０００（登録商標）（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ＣａｒＩｓｂａｄ、ＣＡ）が挙げられる。修飾オリゴヌクレオチドを、ＯＰＴＩ－ＭＥＭ（登録商標）１血清低減培地（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ＣａｒＩｓｂａｄ、ＣＡ）中でＬＩＰＯＦＥＣＴＡＭＩＮＥ２０００（登録商標）と混合して、修飾オリゴヌクレオチドの所望の濃度及び典型的には１００ｎＭ修飾オリゴヌクレオチドあたり２～１２μｇ／ｍＬに及ぶＬＩＰＯＦＥＣＴＡＭＩＮＥ（登録商標）濃度を得る。

[0343] 修飾オリゴヌクレオチドを培養細胞に導入するのに使用される別の試薬としては、Ｃｙｔｏｆｅｃｔｉｎ（登録商標）（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ＣａｒＩｓｂａｄ、ＣＡ）が挙げられる。修飾オリゴヌクレオチドを、ＯＰＴＩ－ＭＥＭ（登録商標）１血清低減培地（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ＣａｒＩｓｂａｄ、ＣＡ）中でＣｙｔｏｆｅｃｔｉｎ（登録商標）と混合して、修飾オリゴヌクレオチドの所望の濃度及び典型的には１００ｎＭ修飾オリゴヌクレオチドあたり２～１２μｇ／ｍＬに及ぶＣｙｔｏｆｅｃｔｉｎ（登録商標）濃度を得る。

[0344] 修飾オリゴヌクレオチドを培養細胞に導入するのに使用される別の技法としては、エレクトロポレーションが挙げられる。

[0345] 修飾オリゴヌクレオチドはＬＩＰＯＦＥＣＴＩＮなどを使用しなくても、細胞に導入される。この場合の修飾オリゴヌクレオチドの標的遺伝子の発現抑制方法をＧｙｍｎｏｓｉｓ法という。

[0346] 慣例的方法によって細胞を修飾オリゴヌクレオチドで処理する。典型的には、修飾オリゴヌクレオチド処理してから１６～４８時間後に細胞を収集し、その時点で、当技術分野で既知の及び本明細書に記載の方法によって、標

的核酸のＲＮＡまたは蛋白質レベルを測定する。一般に、複数の反復で処理を実施する場合、反復処理の平均としてデータを示す。

[0347] 使用する修飾オリゴヌクレオチドの濃度は、細胞系統によって異なる。特定の細胞系統に対する至適な修飾オリゴヌクレオチド濃度を決定する方法は当技術分野で周知である。ＬＩＰＯＦＥＣＴＡＭＩＮＥ２０００（登録商標）、ＬＩＰＯＦＥＣＴＩＮまたはＣｙｔｏｆｅｃｔｉｎを用いてトランスフェクトする場合に、典型的には１ｎＭ～３００ｎＭに及ぶ濃度で修飾オリゴヌクレオチドを使用する。エレクトロポレーションを使用してトランスフェクトする場合は、６２５～２０，０００ｎＭに及ぶより高濃度で修飾オリゴヌクレオチドを使用する。各濃度での遺伝子発現の阻害率から、５０％の遺伝子発現を抑制する修飾オリゴヌクレオチドの濃度IC_{50}を算出することができる。

[0348] ＲＮＡ単離

ＲＮＡ解析は、全細胞ＲＮＡまたはポリ（Ａ）＋ｍＲＮＡについて実施することができる。ＲＮＡ単離の方法は当技術分野で周知である。ＲＮＡは、当技術分野で周知の方法を使用して、例えば、製造業者の推奨プロトコールに従ってＴＲＩＺＯＬ（登録商標）試薬（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ）を使用して調製する。

[0349] 標的のレベルまたは発現の阻害に関する解析

ＤＵＸ４核酸のレベルまたは発現の阻害は、当技術分野で既知の様々な方法でアッセイすることができる。例えば、標的核酸レベルは、例えば、ノーザンブロット解析、競合的ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）または定量的リアルタイムＰＣＲによって定量化することができる。ＲＮＡ解析は、全細胞ＲＮＡまたはポリ（Ａ）＋ｍＲＮＡについて実施することができる。ＲＮＡ単離の方法は当技術分野で周知である。ノーザンブロット解析も当技術分野で慣例的である。定量的リアルタイムＰＣＲは、ＰＥ－Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、Ｆｏｓｔｅｒ Ｃｉｔｙ、ＣＡから入手可能な、製造者の説明書に従って使用される、市販のＡＢＩ ＰＲＩＳＭ（登録商標）７

６００、７７００または７９００配列検出システムを使用して、便利に達成することができる。

[0350] 標的ＲＮＡレベルの定量的リアルタイムＰＣＲ解析

標的ＲＮＡレベルの定量化は、製造者の説明書に従ってＡＢＩ　ＰＲＩＳＭ（登録商標）７６００、７７００または７９００配列検出システム（ＰＥ－Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、Ｆｏｓｔｅｒ　Ｃｉｔｙ、ＣＡ）を使用して、定量的リアルタイムＰＣＲによって達成することができる。定量的リアルタイムＰＣＲの方法は当技術分野で周知である。

[0351] リアルタイムＰＣＲの前に、単離したＲＮＡを逆転写酵素（ＲＴ）反応にかけ、これによって、次いでリアルタイムＰＣＲ増幅の基質として使用される相補ＤＮＡ（ｃＤＮＡ）が生成される。ＲＴ及びリアルタイムＰＣＲの反応を同じ試料ウェル中で逐次実施する。ＲＴ及びリアルタイムＰＣＲの試薬は、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ（Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ）から得られる。ＲＴ、リアルタイムＰＣＲ反応は、当業者に周知の方法により行う。

[0352] リアルタイムＰＣＲによって得られる遺伝子（またはＲＮＡ）標的の量は、シクロフィリンＡなどの発現が一定な遺伝子の発現レベルを使用して、またはＲＩＢＯＧＲＥＥＮ（登録商標）（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｉｎｃ．Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ）を使用して全ＲＮＡを定量化することによって、標準化する。シクロフィリンＡの発現は、リアルタイムＰＣＲによって、標的と同時に、多重的にまたは別々に実施することにより、定量化する。全ＲＮＡは、ＲＩＢＯＧＲＥＥＮ（登録商標）ＲＮＡ定量化試薬（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｉｎｃ．Ｅｕｇｅｎｅ、ＯＲ）を使用して定量化する。ＲＩＢＯＧＲＥＥＮ（登録商標）によるＲＮＡの定量化方法は、Ｊｏｎｅｓ，Ｌ．Ｊ．，ｅｔａｌ，（Ａｎａｌｙｔｉｃａｌ　Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，１９９８，２６５，３６８－３７４）において教示される。ＣＹＴＯＦＬＵＯＲ（登録商標）４０００機器（ＰＥＡｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）を使用して、ＲＩＢＯＧＲＥＥＮ（登録商標）蛍光を測定する。

[0353] プローブ及びプライマーをDUX4核酸にハイブリダイズするように設計する

。リアルタイムＰＣＲのプローブ及びプライマーの設計方法は当技術分野で周知であり、ＰＲＩＭＥＲ　ＥＸＰＲＥＳＳ（登録商標）ソフトウェア（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、ＦｏｓｔｅｒＣｉｔｙ、ＣＡ）などのソフトウェアの使用を含むことができる。

[0354] 蛋白質レベルの解析

ＤＵＸ４蛋白質のレベルを測定することによって、ＤＵＸ４核酸のアンチセンス阻害を評価することができる。ＤＵＸ４蛋白質のレベルは、当技術分野で周知な様々な方法、例えば、免疫沈降法、ウェスタンブロット解析（免疫ブロット法）、酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）、定量的蛋白質アッセイ、蛋白質活性アッセイ（例えば、カスパーゼ活性アッセイ）、免疫組織化学法、免疫細胞化学法または蛍光活性化セルソーティング（ＦＡＣＳ）で調べるまたは定量化することができる。標的に対する抗体は、様々な供給源、例えば抗体のＭＳＲＳカタログ（ＡｅｒｉｅＣｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ、Ｂｉｒｍｉｎｇｈａｍ、ＭＩ）から特定すること及び得ることができ、または当技術分野で周知の従来のモノクローナルまたはポリクローナル抗体産生方法により調製することができる。

[0355] 遺伝子発現の解析

ＤＵＸ４遺伝子発現のレベルをルシフェラーゼなどのレポーター遺伝子を利用して測定することもできる。例えば、ｐｓｉＣＨＥＣＫ－２　ｖｅｃｔｏｒ　（Ｐｒｏｍｅｇａ）を使用すると、ＤＵＸ４遺伝子の発現が、ＤＵＸ４との融合蛋白であるＲｅｎｉｌｌａルシフェラーゼの発光量で測定でき、同ベクター上に存在するＦｉｒｅｆｌｙ　ｌｕｃｉｆｅｒａｓｅの発光量で補正することにより、非特異的な細胞死などの影響を除外することができる。

[0356] 修飾オリゴヌクレオチドのインビボ試験

修飾オリゴヌクレオチドは、ＤＵＸ４の発現を阻害する及び表現型を変化させるその能力を評価するために、動物で試験する。試験は、正常な動物で、または実験用の疾患モデル、例えばＤＵＸ４のトランスジェニックマウス

モデル（Ｊｏｎｅｓ，Ｔ．ｅｔ　ａｌ．　ＰＬｏＳ　Ｏｎｅ．２０１８；１３（２）、Ａｒｔｉｃｌｅ　ｎｕｍｂｅｒ　ｅ０１９２６５７）や遺伝子組み換えＡＡＶウイルスを用いたＤＵＸ４遺伝子発現マウス（Ｗａｌｌａｃｅ，ＬＭｅｔ　ａｌ．　Ｍｏｌ　Ｔｈｅｒ．２０１２；２０（７）：１４１７、Ｗａｌｌａｃｅ，ＬＭｅｔ　ａｌ．　Ａｎｎ　Ｎｅｕｒｏｌ．２０１１；６９（３）：５４０）で実施することができる。

[0357] 動物へ投与するために、修飾オリゴヌクレオチドを、医薬的に許容可能な希釈剤、例えばリン酸緩衝食塩水中に製剤化する。投与は非経口投与経路を含む。修飾オリゴヌクレオチドによる処置期間に続いて、ＲＮＡを組織から単離し、ＤＵＸ４核酸発現の変化を測定する。ＤＵＸ４蛋白質のレベルの変化も測定する。

[0358] ある種のアンチセンスメカニズム

ＦＳＨＤは、筋肉におけるＤＵＸ４遺伝子（特にＤＵＸ４－ＦＬのスプライシングバリアント）の異常発現、によって引き起こされる。一方、ＤＵＸ４は健常人においても例えば、精巣などで発現している。精巣などで発現しているあるＤＵＸ４のスプライシングバリアントにはＤＵＸ４－ＦＬに加え、エクソン１、エクソン２、エクソン６、エクソン７のスプライシングバリアント、エクソン１、エクソン２、エクソン４、エクソン５、エクソン６、エクソン７のスプライシングバリアントが発現する（上記非特許文献１）。

[0359] ある種のバイオマーカー

少なくとも部分的には、ＤＵＸ４蛋白質の蓄積レベルによって、例えばＭＢＤ３Ｌ２、ＺＳＣＡＮ４、ＴＲＩＭ４３、ＤＥＦＢ１０３、ＺＮＦ２１７などの遺伝子発現が調節される（上記非特許文献２）。また、筋障害のマーカーとしては血中クレアチンキナーゼを測定することができる。

[0360] ある種の適応症

ある種の実施態様では、個体を処置する方法であって、本明細書に記載の１つまたは複数の医薬組成物を投与することを含む方法が本明細書で提供される。ある種の実施態様では、個体はＦＳＨＤを有する。

[0361] したがって、それを必要とする対象において、ＦＳＨＤと関係がある症状を改善させる方法が本明細書で提供される。ある種の実施態様では、ＦＳＨＤと関係がある１つ以上の症状の発症率を低減させる方法が提供される。ある種の実施態様では、ＦＳＨＤと関係がある症状の重症度を低減させる方法が提供される。ある種の実施態様では、ＦＳＨＤと関係がある症状としては、筋硬直、筋強直症、顔面筋衰弱、眼瞼下垂、口笛不能、顔の表情変化の減少、憂鬱または怒り顔表情、語を発音する困難、肩甲筋衰弱（翼状肩甲、撫肩等の変形）、下肢衰弱、聴力損失、および心臓病が挙げられる。

[0362] ある種の実施態様では、本発明の方法は、治療有効量の、ＤＵＸ４核酸を標的とする化合物を、それを必要とする個体に投与することを含む。

[0363] ある種の実施態様では、ＤＵＸ４核酸を標的とする修飾オリゴヌクレオチドの投与は、少なくとも約１５％、少なくとも約２０％、少なくとも約２５％、少なくとも約３０％、少なくとも約３５％、少なくとも約４０％、少なくとも約４５％、少なくとも約５０％、少なくとも約５５％、少なくとも約６０％、少なくとも約６５％、少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％もしくは少なくとも約９９％またはこれらの値の任意の２つによって定められた範囲のＤＵＸ４の発現の低減をもたらす。

[0364] ある種の実施態様では、ＤＵＸ４を標的とする修飾オリゴヌクレオチドを含む医薬組成物は、ＦＳＨＤなどのＤＵＸ４関連疾患を患っているまたはそれに罹りやすい患者を処置するための医薬を調製するのに使用される。

[0365] ある種の実施態様では、本明細書に記載の方法は、配列表の配列番号２、３、４、７～６４、６９～９７または１０２～１１２に記載される配列の、本明細書に記載される連続的な核酸塩基部分を有する修飾オリゴヌクレオチドを含む化合物を投与することを含む。

[0366] 投与

ある種の実施態様では、本明細書に記載の化合物及び医薬組成物は非経口的に投与される。

[0367] ある種の実施態様では、非経口投与は注入による。注入は、長期的または持続的でもよく、短期的または断続的でもよい。ある種の実施態様では、注入された医薬剤はポンプで送達される。ある種の実施態様では、非経口投与は注射（例えばボーラス注射）による。注射剤は注射器で送達され得る。

[0368] 非経口投与としては、例えば、皮下投与、静脈内投与、筋肉内投与、動脈内投与、腹腔内投与または頭蓋内投与、例えば、髄腔内または脳室内投与が挙げられる。投与は、持続的または長期的でもよいし、短期的または断続的でもよい。

[0369] ある種の実施態様では、本明細書に記載される医薬組成物の化合物の送達は、標的ｍＲＮＡ及び／または標的蛋白質のレベルの少なくとも７０％のダウンレギュレーションをもたらす。ある種の実施態様では、本明細書に記載される化合物または組成物の送達は、少なくとも１日、少なくとも３日、少なくとも５日、少なくとも７日、少なくとも１０日、少なくとも１４日、少なくとも２０日、少なくとも２１日、少なくとも２８日、少なくとも３０日、少なくとも３５日、少なくとも４０日、少なくとも４５日、少なくとも５０日、少なくとも５５日、少なくとも６０日、少なくとも６５日、少なくとも７０日、少なくとも７５日、少なくとも７６日、少なくとも７７日、少なくとも７８日、少なくとも７９日、少なくとも８０日、少なくとも８５日、少なくとも９０日、少なくとも９５日、少なくとも１００日、少なくとも１０５日、少なくとも１１０日、少なくとも１１５日、少なくとも１２０日、少なくとも１年にわたって、標的ｍＲＮＡ及び／または標的蛋白質のレベルの１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％または１００％のダウンレギュレーションをもたらす。

[0370] ある種の実施態様では、修飾オリゴヌクレオチドは、毎日１回、３日に１回、毎週１回、隔週１回、３週間に１回、毎月１回、２か月に１回、３か月に１回、６か月に１回、年に２回または年に１回、注射または注入によって送達される。

[0371] ある種の併用療法

ある種の実施態様では、本発明の修飾オリゴヌクレオチドを含む第一の薬剤は、１種または複数の第二の薬剤と共投与される。ある種の実施態様では、そうした第二の薬剤は、本明細書に記載の第一の薬剤と同じＦＳＨＤを処置するように設計される。ある種の実施態様では、そうした第二の薬剤は、本明細書に記載の第一の薬剤と異なる疾患、障害または状態を処置するように設計される。ある種の実施態様では、そうした第二の薬剤は、本明細書に記載の１つまたは複数の医薬組成物の望ましくない副作用を処置するように設計される。ある種の実施態様では、第二の薬剤は、第一の薬剤の望ましくない作用を処置するために、第一の薬剤と共投与される。ある種の実施態様では、第二の薬剤は、併用効果をもたらすために、第一の薬剤と共投与される。ある種の実施態様では、第二の薬剤は、相乗効果をもたらすために、第一の薬剤と共投与される。

[0372] ある種の実施態様では、第一の薬剤及び１種または複数の第二の薬剤は、同時に投与される。ある種の実施態様では、第一の薬剤及び１種または複数の第二の薬剤は、異なる時間に投与される。ある種の実施態様では、第一の薬剤及び１種または複数の第二の薬剤は、単一の医薬製剤中に一緒に調製される。ある種の実施態様では、第一の薬剤及び１種または複数の第二の薬剤は、別々に調製される。

[0373] ある種の化合物

ある種の実施態様では、本明細書に開示される化合物は、市販されているＤＮＡ・ＲＮＡ合成用アミダイト（ＬＮＡも含む）を使用してホスホロアミダイト法によりオリゴマーを合成することができる。人工核酸ＧｕＮＡはＷＯ２０１４／０４６２１２号、ＷＯ２０１７／０４７８１６号に記載された方法によりオリゴマーを合成することができる。人工核酸ＡＬＮＡ［Ｍｓ］、ＡＬＮＡ［ｍＵ］、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］、ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］及びＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］は、特願２０１８－２１２４２４号に記載された方法によりオリゴマーを合成することができる。

[0374] ある種の実施態様では、本明細書に開示される化合物は、適切な比較化合物と比較して向上した１つまたは複数のインビトロ及び／またはインビボ特性の利益を享受する。

[0375] ある種の実施態様では、（５’から３’）ngagattcccgccggt（nは５－メチルシトシンであり、配列番号２として本明細書に組み込まれる）の配列を有する化合物番号1の化合物、すなわち５’ウイング、３’ウイングが各３つのＬＮＡ含有ヌクレオシドからなるギャップマーであって、各ヌクレオシド間結合がホスホロチオエート結合である化合物である。

[0376] ある種の実施態様では、（５’から３’）gnagttctccgcggt（nは５－メチルシトシンであり、配列表の配列番号３として本明細書に組み込まれる）の配列を有する化合物番号２の化合物、すなわち５’ウイング、３’ウイングが各３つのＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオシドからなるギャップマーであって、各ヌクレオシド間結合がホスホロチオエート結合である化合物である。

[0377] ある種の実施態様では、（５’から３’）gnntagacagcgtngg（nは５－メチルシトシンであり、配列表の配列番号４として本明細書に組み込まれる）の配列を有する化合物番号３の化合物、すなわち５’ウイング、３’ウイングが各３つのLNA含有ヌクレオシドからなるギャップマーであって、各ヌクレオシド間結合がホスホロチオエート結合である化合物である。

[0378] ある種の実施態様では、（５’から３’）gnntagacagcgtngg（nは５－メチルシトシンであり、配列表の配列番号４として本明細書に組み込まれる）の配列を有する化合物番号１２３の化合物、すなわち５’ウイング、３’ウイングが各３つのALNA［Ms］含有ヌクレオシドからなるギャップマーであって、各ヌクレオシド間結合がホスホロチオエート結合である化合物である。

[0379] 非限定的開示及び参照による組み込み

本明細書に記載のある種の化合物、組成物及び方法は、ある種の実施態様に従って特異的に記載されているが、以下の実施例は、本明細書に記載の化合物を例示する役割を果たすにすぎず、これを限定することを意図しない。本出願に記載される参考文献、ＧＥＮＢＡＮＫ受託番号などのそれぞれは、

参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

[0380] 本出願に添付の配列表は、必要に応じて「ＲＮＡ」または「ＤＮＡ」のいずれかとして各配列を特定するが、実際には、それらの配列は化学修飾の任意の組み合わせで修飾され得る。修飾オリゴヌクレオチドを説明するための「ＲＮＡ」または「ＤＮＡ」のような指定は、場合によっては恣意的であることを、当業者なら容易に理解するであろう。例えば、２’－ＯＨ糖部分及びチミン塩基を含有するヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドは、修飾糖（ＤＮＡの天然２’－Ｈに対して２’－ＯＨ）を有するＤＮＡとして、または修飾塩基（ＲＮＡの天然ウラシルに対してチミン（メチル化ウラシル））を有するＲＮＡとして説明され得る。

[0381] したがって、これらに限定されないが、配列表にあるものを含めた、本明細書で提供される核酸配列は、これらに限定されないが、修飾核酸塩基を有するそうした核酸を含めた、天然もしくは修飾ＲＮＡ及び／またはＤＮＡの任意の組み合わせを含む核酸を包含することが意図される。限定されるものではないが、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、修飾されていても、修飾されていなくても、そうした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、これには、これらに限定されないが、ＲＮＡ塩基を含むそうした化合物、例えば配列「ＡＵＣＧＡＵＣＧ」を有するもの、並びに「ＡＵＣＧＡＴＣＧ」などのいくつかのＤＮＡ塩基及びいくつかのＲＮＡ塩基を有するもの、並びに「ＡＴｍｅＣＧＡＵＣＧ」（ここでは、ｍｅＣは５位にメチル基を含むシトシン塩基を示す）などの他の修飾されたまたは天然に存在する塩基を有するオリゴマー化合物が含まれる。

実施例

[0382] 非限定開示及び参照による組み込み

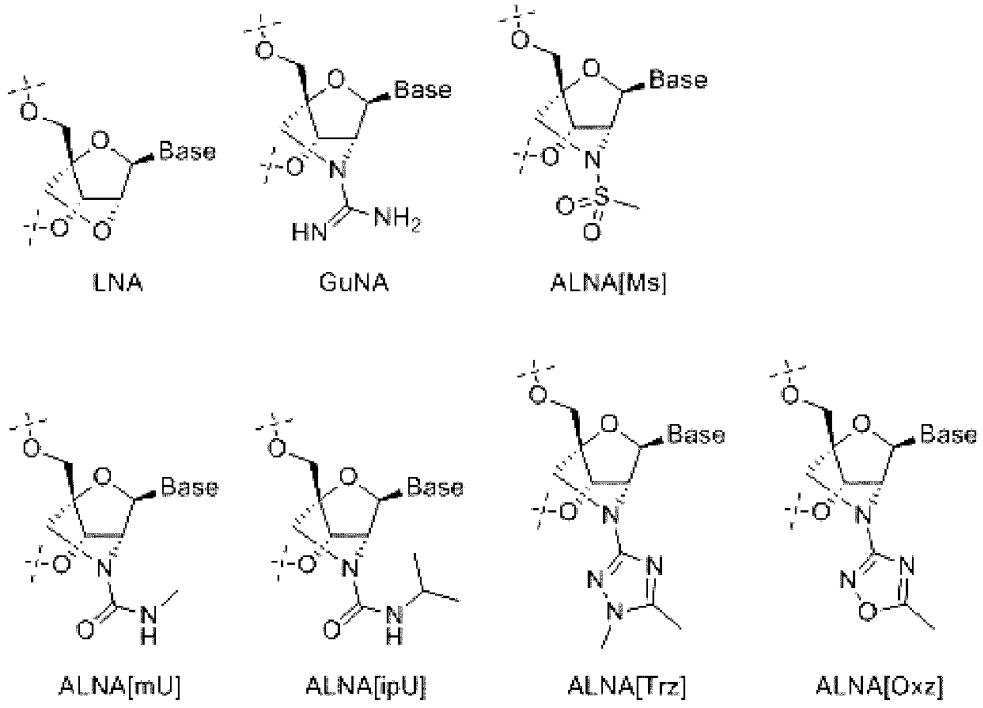
本明細書に記載のある種の化合物、組成物及び方法は、ある種の実施態様に従って特異的に記載されているが、以下の実施例は、本明細書に記載の化合物を例示する役割を果たすにすぎず、これを限定することを意図しない。

本出願に記載される参考文献のそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

[0383] 本明細書中で使用する各人工核酸の構造を、下記構造式にそれぞれの略称と共に示した。

各人工核酸の構造と略称

[化35]



[0384] 実施例１

<u>Ｉｎ ｖｉｔｒｏ評価用修飾オリゴヌクレオチド化合物の合成および精製</u>

各種アミダイト（ＬＮＡアミダイトはChem Genes及びHongene Biotechnology Limitedより購入、２’-ＯＭｅアミダイトはSigma-Aldrichより購入、ＧｕＮＡはＷＯ２０１４／０４６２１２号、ＷＯ２０１７／０４７８１６号に記載された方法により合成、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］、ＡＬＮＡ［ｍＵ］、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］、ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］及びＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］は、特願２０１８－２１２４２４号に記載された方法により合成）を用いて、修飾オリゴヌクレ

オチド化合物を、ＤＮＡ／ＲＮＡオリゴヌクレオチド自動合成機ｎＳ－８ＩＩ(株式会社ジーンデザイン製)により０．２または１．０μｍｏｌスケールにてＣＰＧまたはポリスチレン担体を用いて合成した。アミダイトは全て０．１Ｍのアセトニトリル溶液に調整し、非天然型ヌクレオシドにおけるカップリング時間は１０分間で行い、それ以外の工程はｎＳ－８ＩＩの標準条件にて行った。活性化剤はＡｃｔｉｖａｔｏｒ４２（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）、チオ化にはＳｕｌｆｕｒｉｚｉｎｇ　ＲｅａｇｅｎｔＩＩ（Ｇｒｅｎ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）を使用した。合成したオリゴヌクレオチドは２８％アンモニア水溶液を加えて６０－６５℃にて８時間反応させることで担体からの切り出しと塩基部の脱保護を行った。アンモニアを濃縮留去したのち、逆相ＨＰＬＣ精製を行った。

[0385] 実施例２

<u>Ｉｎ　ｖｉｖｏ評価用修飾オリゴヌクレオチド化合物の合成および精製</u>

各種アミダイトを用いて、修飾オリゴヌクレオチド化合物を、ＤＮＡ／ＲＮＡオリゴヌクレオチド自動合成機ＡＫＴＡ　ｏｌｉｇｏｐｉｌｏｔ　ｐｌｕｓ　１０（ＧＥヘルスケアジャパン株式会社製)により２０～５０μｍｏｌスケールにてポリスチレン担体を用いて合成した。ＤＮＡアミダイトは０．１Ｍ、非天然型アミダイトは０．０５～０．１Ｍのアセトニトリル溶液に調整し、非天然型ヌクレオシドにおけるカップリングリサイクル時間は２０分間で行い、ユニバーサル担体への１塩基目の導入の際は、カップリング、チオ化、キャッピング工程をそれぞれ２回連続で実施した。それ以外の工程はＡＫＴＡ　ｏｌｉｇｏｐｉｌｏｔ　ｐｌｕｓ１０の標準条件にて行った。活性化剤はＡｃｔｉｖａｔｏｒ４２（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）、チオ化にはＳｕｌｆｕｒｉｚｉｎｇ　ＲｅａｇｅｎｔＩＩ（Ｇｒｅｎ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）を使用した。合成したオリゴヌクレオチドは、２０％ジエチルアミン／アセトニトリルもしくは５０％トリエチルアミン／アセトニトリルを用いて固相上で脱シアノエチル処理を行い、２８％アンモニア水溶液を加えて６０－６５℃にて８～２４時間反応させることで

担体からの切り出しと塩基部の脱保護を行った。アンモニアを濃縮留去したのち、陰イオン交換カラムで精製を行った。陰イオン交換後に含まれる余剰塩を脱塩カラムにより除去した。

[0386] 実施例３

修飾オリゴヌクレオチド化合物の純度確認

合成した修飾オリゴヌクレオチド化合物の精製および純度確認は、逆相ＨＰＬＣにより以下の条件で行った。いずれの化合物も純度８５％以上であった。

逆相ＨＰＬＣ（精製）

移動相：

Ａ液：４００ｍＭ　ヘキサフルオロイソプロパノール、１５ｍＭ　トリエチルアミン

Ｂ液：メタノール

グラジエント：　Ａ：Ｂ　＝８５：１５→７０：３０（１０ｍｉｎ）

使用カラム：

分取　Ｗａｔｅｒｓ　ＸＢｒｉｄｇｅ@　Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ　ＢＥＨ　Ｃ１８　ＯＢＤＴＭ　Ｐｒｅｐ　Ｃｏｌｕｍｎ，１３０Å，２．５μｍ，１０ｍｍ＊５０ｍｍ

流速：

分取　５ｍＬ/ｍｉｎ

カラム温度：６０℃

検出：ＵＶ（２６０ｎｍ）

逆相ＨＰＬＣ（純度確認）

移動相：

Ａ液：４００ｍＭ　ヘキサフルオロイソプロパノール、１５ｍＭ　トリエチルアミン水溶液

Ｂ液：メタノール

グラジエント：Ａ：Ｂ　＝８０：２０→７０：３０（６．５ｍｉｎ）

使用カラム：

分析　Ｗａｔｅｒｓ　ＡＣＱＵＩＴＹ　ＵＰＬＣ@　Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ　ＢＥＨ　Ｃ１８　Ｃｏｌｕｍｎ，　１３０Åｍ　１．７μｍ，　２．１ｍｍ＊５０ｍｍ

流速：０．２ｍＬ／ｍｉｎ

カラム温度：６０℃

検出：ＵＶ（２６０ｎｍ）

陰イオン交換精製

移動相：

Ａ液：１ｍＭ　ＮａＯＨ　２０％アセトニトリル水溶液

Ｂ液：１ｍＭ　ＮａＯＨ，　１．５Ｍ　ＮａＣｌ／２０％アセトニトリル水溶液

使用カラム：ＴＳＫｇｅｌ　ＳｕｐｅｒＱ－５ＰＷ（１３）　φ２１．１＊１５ｍｍ

流速：７ｍＬ／ｍｉｎ

カラム温度：室温

検出：ＵＶ（２６０ｎｍ）

脱塩カラム

移動相：

Ａ液：２０％アセトニトリル水溶液

Ｂ液：２０％アセトニトリル水溶液

使用カラム：

ＧＥ　ＨｉＰｒｅｐ　２６／１０　Ｄｅｓａｌｔｉｎｇ＊４本直列

流速：１２ｍＬ／ｍｉｎ

カラム温度：室温

[0387] 実施例４

修飾オリゴヌクレオチド化合物分子量測定

合成した修飾オリゴヌクレオチド化合物の分子量は、Ｗａｔｅｒｓ　ＺＱを用いて以下の条件で行った。

移動相：

Ａ液：４００ｍＭ ヘキサフルオロイソプロパノール、１５ｍＭ トリエチルアミン水溶液

Ｂ液：メタノール

グラジエント：Ａ：Ｂ　＝８０：２０→７０：３０（６．５ｍｉｎ）

使用カラム：

Ｗａｔｅｒｓ　ＡＣＱＵＩＴＹ　ＵＰＬＣ@　Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ　ＢＥＨ　Ｃ１８　Ｃｏｌｕｍｎ，　１３０Åｍ　１．７μｍ，　２．１ｍｍ＊５０ｍｍ

流速：０．２ｍＬ／ｍｉｎ

カラム温度：６０℃

検出：ＵＶ（２６０ｎｍ）

[0388] 実施例５

<u>合成した修飾オリゴヌクレオチド化合物の分子量</u>

合成した修飾オリゴヌクレオチド化合物を以下の表１に示す。化合物の表記は、各ヌクレオチドが３文字で表される。但し３’末端のヌクレオチドはヌクレオシド間結合がないため２文字で表される。

１）第１文字は大文字で表され、下記核酸塩基を示す：

Ａ＝アデニン、Ｔ＝チミン、Ｇ＝グアニン、Ｃ＝シトシン、Ｕ＝ウラシル、Ｍ＝５－メチルシトシン、

２）第２文字は下記各糖部分を示す：

Ｉ＝ＬＮＡ、ｇ＝ＧｕＮＡ、ｍ＝ＡＬＮＡ［Ｍｓ］、ｕ＝ＡＬＮＡ［ｍＵ］、ｐ＝ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］、ｔ＝ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］、ｅ＝2’－ＭＯＥ

、ｏ＝２’－ＯＭｅ、ｄ＝２’－デオキシリボース、

３）第３文字は下記ヌクレオシド間結合を示す：

ｓ＝ホスホロチオエート、ｐ＝ホスホジエステル。

標的位置として、修飾オリゴヌクレオチドのＤＵＸ４成熟ｍＲＮＡの５’標的部位（修飾オリゴヌクレオチドの３’末端に対応する配列表の配列番号１の位置）を示す。

[表1-1]

表１

化合物番号	配列番号	標的位置	配列	m/z	イオン種
1	2	233	MlsGlsAlsGdsAdsTdsTdsCdsCdsCds GdsCdsCdsGlsGlsTl	1318.8	[M-4H]4-
2	3	1309	GmsMmsAmsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGmsGmsTm	1807.9	[M-3H]3-
3	4	1480	GlsMlsMlsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGds CdsGdsTdsMlsGlsGl	1784.3	[M-3H]3-
4	7	232	GlsAlsTlsTdsCdsCdsCdsGdsCdsCds GdsGlsTlsGl	4630.44	[M-H]-
5	8	233	AgsGgsAgsTdsTdsCdsCdsCdsGdsCds CdsGgsGgsTg	1214.8	[M-4H]4-
6	9	233	GgsAgsGgsAdsTdsTdsCdsCdsCdsGds CdsCdsGgsGgsTg	1300.8	[M-4H]4-
7	9	233	GlsAlsGlsAdsTdsTdsCdsCdsCdsGds CdsCdsGlsGlsTl	1239.3	[M-4H]4-
8	10	233	MmsGmsAdsGmsAdsTdsTdsMdsMdsMdsG dsMdsMmsGds6msTm	1161.8	[M-5H]5-
9	10	233	MmsGdsAmsGmsAdsTdsTdsMdsMdsMds6 dsMdsMms6msGdsTm	1161.9	[M-5H]5-
10	2	233	MgsGgsAgsGdsAdsTdsTdsCdsCdsCds GdsCdsCdsGgsGgsTg	1381.0	[M-4H]4-
11	10	233	MusGusAusGdsAdsTdsTdsMdsMdsMds GdsMdsMdsGusGusTu	1136.5	[M-5H]5-
12	10	233	MpsGpsApsGdsAdsTdsTdsMdsMdsMds GdsMdsMdsGps6psTp	1170.2	[M-5H]5-
13	11	234	GlsAlsGlsAdsTdsTdsCdsCdsCdsGds CdsMlsGlsGl	4653.17	[M-H]-
14	11	234	GgsAgsGgsAdsTdsTdsCdsCdsCdsGds CdsMgsGgs6g	1224.5	[M-4H]4-
15	12	234	GtsAtsGtsAdsTdsTdsMdsMdsMdsGds MdsMts6tsGt	1317.7	[M-4H]4-
16	12	234	GusAusGusAdsTdsTdsMdsMdsMdsGds MdsMus6usGu	1261.0	[M-4H]4-
17	12	234	GmsAmsGmsAdsTdsTdsMdsMdsMdsGds MdsMms6msGm	1292.5	[M-4H]4-
18	13	234	MmsGdsAmsGmsAdsTdsTdsMdsMdsMds6 dsMmsMmsGdsGm	1097.5	[M-5H]5-
19	14	234	MgsGgsAgsGdsAdsTdsTdsCdsCdsCds GdsCdsMgsGgsGg	1304.5	[M-4H]4-
20	14	234	MlsGlsAlsGdsAdsTdsTdsCdsCdsCds GdsCdsMlsGlsGl	1242.6	[M-4H]4-
21	15	1306	AlsGlsTlsTdsCdsTdsCdsCdsGdsCds GdsGdsTdsGlsTlsGl	1769.7	[M-3H]3-
22	16	1307	GlsMlsAlsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGdsGdsTlsGlsTl	1876.0	[M-3H]3-

[表1-2]

（表１続き）

23	17	1307	GlsGlsMlsAdsGdsTdsTdsCdsTdsCds CdsGdsCdsGdsGdsTlsGlsTl	1990.8	[M-3H]3-
24	18	1308	MgsAgsGgsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGds CdsGdsGgsTgsGg	1736.7	[M-3H]3-
25	18	1308	MgsAgsGgsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGds CdsGdsGdsTgsGg	1284.9	[M-4H]4-
26	19	1308	MmsAmsGdsTmsTdsMdsTdsMdsMdsGds MdsGmsGdsTmsGm	1096.2	[M-5H]5-
27	19	1308	MmsAdsGmsTmsTdsMdsTdsMdsMdsGds MdsGmsGmsTdsGm	1370.6	[M-4H]4-
28	20	1308	GlsCdsAlsGlsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGlsGlsTdsGl	1765.4	[M 3H]3
29	20	1308	GlsCdsAlsGdsTlsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGlsGdsTdsGl	1755.3	[M-3H]3-
30	20	1308	GgsCdsAgsGgsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGgsGgsTdsGg	1385.1	[M-4H]4-
31	20	1308	GlsCdsAlsGlsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGlsGdsTlsGl	1323.4	[M-4H]4-
32	97	1308	GgsCdsAgsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsMgsGdsGgsTdsGg	1828.3	[M-3H]3-
33	21	1308	GlsMlsAlsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGdsGlsTlsGl	1769.4	[M-3H]3-
34	21	1308	GlsMlsAlsGlsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGlsGlsTlsGl	1788.3	[M-3H]3-
35	21	1308	GlsMlsAdsGlsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGlsGdsTlsGl	1769.2	[M 3H]3
36	21	1308	GmsMmsAmsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGdsGmsTmsGm	1923.5	[M-3H]3-
37	21	1308	GgsMgsAgsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGdsGgsTgsGg	1851.7	[M-3H]3-
38	21	1308	GgsMgsAgsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGgsGdsTgsGg	1388.3	[M-4H]4-
39	21	1308	GgsMgsAdsGgsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGgsGdsTgsGg	1389.1	[M-4H]4-
40	21	1308	GlsMlsAdsGlsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGlsGlsTdsGl	1769.5	[M-3H]3-
41	22	1308	GmsMmsAdsGmsTdsTdsMdsTdsMdsMds GdsMdsGmsGdsTmsGm	1165.5	[M-5H]5-
42	22	1308	GmsMdsAmsGmsTdsTdsMdsTdsMdsMds GdsMdsGmsGmsTdsGm	1165.4	[M-5H]5-
43	22	1308	GmsMmsAdsGmsTdsTdsMdsTdsMdsMds GdsMdsGmsGmsTdsGm	1165.2	[M-5H]5-
44	22	1308	GmsMmsAdsGmsTdsTdsMdsTdsMdsMds GdsMdsGmsGdsTdsGm	1144.2	[M-5H]5-
45	22	1308	GmsMmsAdsGmsTdsTdsMdsTdsMdsMds GdsMmsGdsGmsTdsGm	1165.2	[M-5H]5-

[表1-3]

（表１続き）

46	22	1308	GlsMlsAdsGlsTdsTdsMdsTdsMdsMds GdsMdsGlsGlsTdsGl	1341.2	[M-4H]4-
47	22	1308	GlsMlsAdsGlsTdsTdsMdsTdsMdsMds GdsMdsGlsGdsTdsGl	1334.2	[M-4H]4-
48	23	1308	GlsGlsMlsAdsGdsTdsTdsCdsTdsCds CdsGdsCdsGdsGlsTlsGl	1884.5	[M-3H]3-
49	24	1308	GmsGdsMmsAdsGmsTdsTdsMdsTdsMds MdsGdsMdsGmsGdsTdsGm	1213.3	[M-5H]5-
50	24	1308	GmsGdsMmsAdsGmsTdsTdsMdsTdsMds MdsGdsMdsGmsGmsTdsGm	1028.5	[M-6H]6-
51	24	1308	GlsGdsMlsAdsGlsTdsTdsMdsTdsMds MdsGdsMdsGlsGdsTdsGl	1136.2	[M-5H]5-
52	24	1308	GlsGdsMlsAdsGlsTdsTdsMdsTdsMds MdsGdsMdsGlsGlsTdsGl	1141.8	[M-5H]5-
53	25	1309	MgsAgsGgsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGds CdsGgsGgsTg	1621.0	[M-3H]3-
54	26	1309	GmsCdsAmsGmsTdsTdsCdsTdsCdsCdsG dsMmsGmsGdsTm	1356.7	[M-4H]4-
55	3	1309	GlsMlsAlsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGlsGlsTl	1654.3	[M-3H]3-
56	3	1309	GlsMlsAdsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGlsGlsTl	4936.4	[M-H]-
57	3	1309	GlsMlsAlsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGdsGlsTl	1645.4	[M-3H]3-
58	3	1309	GgsMgsAgsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGgsGgsTg	1736.8	[M-3H]3-
59	3	1309	GgsMgsAdsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGgsGgsTg	1285.1	[M-4H]4-
60	3	1309	GlsMlsAgsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGgsGlsTl	1261.1	[M-4H]4-
61	3	1309	GlsMgsAlsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGlsGgsTl	1261.1	[M-4H]4-
62	3	1309	GgsMlsAlsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGlsGlsTg	1261.1	[M-4H]4-
63	3	1309	GlsMlsAdsGlsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGlsGlsTl	1240.6	[M-4H]4-
64	27	1309	GmsMmsAdsGmsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsMmsGdsGmsTm	1360.1	[M-4H]4-
65	28	1309	GgsMgsAgsGdsTdsTdsMdsTdsMdsMds GdsMdsGgsGgsTg	1316.1	[M-4H]4-
66	29	1309	GmsMmsAmsGdsTdsTdsMdsTdsMdsMds GdsCosGmsGmsTm	1374.8	[M-4H]4-
67	29	1309	GmsMmsAmsGosTdsTdsMdsTdsMdsMds GdsCosGmsGmsTm	1381.9	[M-4H]4-
68	29	1309	GmsMmsAmsGdsTdsTdsMdsTdsMdsMds GosCosGmsGmsTm	1381.9	[M-4H]4-

[表1-4]

（表１続き）

69	30	1309	GlsMlsAlsGdsTdsTdsMdsTdsMdsMds GdsMdsGlsGlsTl	1254.6	[M-4H]4-
70	30	1309	GmsMmsAmsGdsTdsTdsMdsTdsMdsMds GdsMdsGmsGmsTm	1370.2	[M-4H]4-
71	30	1309	GtsMtsAtsGdsTdsTdsMdsTdsMdsMds GdsMdsGtsGtsTt	1395.9	[M-4H]4-
72	30	1309	GusMusAusGdsTdsTdsMdsTdsMdsMds GdsMdsGusGusTu	1338.8	[M-4H]4-
73	30	1309	GpsMpsApsGdsTdsTdsMdsTdsMdsMds GdsMdsGpsGpsTp	1381.3	[M-4H]4-
74	30	1309	GmsMmsAmsGosTdsTdsMdsTdsMdsMds GdsMdsGmsGmsTm	1377.9	[M-4H]4-
75	31	1309	GmsMmsAmsGosUosTdsMdsTdsMdsMds GdsCosGmsGmsTm	1385.9	[M-4H]4-
76	32	1309	GmsMmsAmsGosUosTdsMdsTdsMdsMds GdsMdsGmsGmsTm	1381.9	[M-4H]4-
77	33	1309	GgsGgsCdsAgsGdsTdsTdsCdsTdsCds CdsGdsCdsGgsGgsTg	1384.9	[M-4H]4-
78	33	1309	GlsGlsCdsAdsGlsTdsTdsCdsTdsCds CdsGlsCdsGdsGlsTl	1323.6	[M-4H]4-
79	34	1309	GlsGlsMlsAdsGdsTdsTdsCdsTdsCds CdsGdsCdsGlsGlsTl	1769.2	[M-3H]3-
80	34	1309	GlsGdsMlsAdsGdsTdsTdsCdsTdsCds CdsGdsCdsGlsGdsTl	1750.7	[M-3H]3-
81	34	1309	GgsGgsMgsAdsGdsTdsTdsCdsTdsCds CdsGdsCdsGgsGgsTg	1388.6	[M-4H]4-
82	34	1309	GmsGmsMmsAdsGdsTdsTdsCdsTdsCds CdsGdsCdsGmsGmsTm	1442.3	[M-4H]4-
83	35	1309	GgsGgsMgsAdsGdsTdsTdsMdsTdsMds MdsGdsMdsGgsGgsTg	1402.4	[M-4H]4-
84	35	1309	GlsGlsMlsAdsGdsTdsTdsMdsTdsMds MdsGdsMdsGlsGlsTl	1340.9	[M-4H]4-
85	36	1309	TmsGmsGmsCdsAdsGdsTdsTdsCdsTds CdsCdsGdsCdsGmsGmsTm	2025.9	[M-3H]3-
86	36	1309	TgsGgsGgsCdsAdsGdsTdsTdsCdsTds CdsCdsGdsCdsGgsGgsTg	1953.3	[M-3H]3-
87	37	1310	GlsMlsAlsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGlsGl	1538.2	[M-3H]3-
88	37	1310	GgsMgsAgsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCds GdsCdsGgsGg	1204.8	[M-4H]4-
89	38	1310	GlsGlsCdsAdsGdsTdsTdsCdsTdsCds CdsGdsMlsGlsGl	1653.1	[M-3H]3-
90	39	1310	GlsGlsMlsAdsGdsTdsTdsCdsTdsCds CdsGdsCdsGlsGl	1653.4	[M-3H]3-
91	39	1310	GgsGgsMgsAdsGdsTdsTdsCdsTdsCds CdsGdsCdsGgsGg	1291.1	[M-4H]4-

[表1-5]

（表１続き）

92	40	1310	GgsGgsMgsAdsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsMgsGgsGg	1312.0	[M-4H]4-
93	41	1310	GlsGlsMlsAdsGdsTdsTdsMdsTdsMdsMdsGdsMdsGlsGl	1253.9	[M-4H]4-
94	42	1472	MlsGlsTlsCdsGdsGdsAdsAdsGdsGdsTdsGlsGlsGl	4774.58	[M-H]-
95	43	1472	GlsMlsGlsTdsCdsGdsGdsAdsAdsGdsGdsTdsGlsGlsGl	1705.7	[M-3H]3-
96	44	1472	AlsGlsMlsGdsTdsCdsGdsGdsAdsAdsGdsGdsTdsGlsGlsGl	1815.1	[M-3H]3-
97	45	1472	MgsAgsGgsCdsGdsTdsCdsGdsGdsAdsAdsGdsGdsTgsGgs6ds6g	1499.9	[M-4H]4-
98	46	1473	AlsGlsMlsGdsTdsCdsGdsGdsAdsAdsGdsGdsTlsGlsGl	1700.3	[M-3H]3-
99	46	1473	AgsGgsMgsGdsTdsCdsGdsGdsAdsAdsGdsGdsTgs6gs6g	1336.7	[M-4H]4-
100	47	1473	AlsGlsMlsGdsTdsMdsGdsGdsAdsAdsGdsGdsTlsGls6l	1278.6	[M-4H]4-
101	48	1473	MlsAlsGlsCdsGdsTdsCdsGdsGdsAdsAdsGdsGdsTlsGlsGl	1801.8	[M-3H]3-
102	48	1473	MmsAmsGmsCdsGdsTdsCdsGdsGdsAdsAdsGdsGdsTmsGmsGm	1956.1	[M-3H]3-
103	48	1473	MgsAgsGgsCdsGdsTdsCdsGdsGdsAdsAdsGdsGdsTgsGgsGg	1883.9	[M-3H]3-
104	48	1473	MgsAgsGgsCds6dsTdsCdsGdsGdsAdsAdsGdsGgsTgsGdsGg	1413.0	[M-4H]4-
105	49	1473	MgsAgsGgsMds6dsTdsMdsGdsGdsAdsAdsGdsGdsTgsGgsGg	1419.9	[M-4H]4-
106	50	1473	AgsMgsAdsGgsCdsGdsTdsCdsGdsGdsAdsAdsGdsGdsTgsGgs6g	1495.5	[M-4H]4-
107	50	1473	AgsMgsAgsGdsCdsGdsTdsCdsGdsGdsAdsAdsGdsGdsTgsGgs6g	1495.1	[M-4H]4-
108	51	1474	MlsAlsGlsCdsGdsTdsCdsGdsGdsAdsAdsGdsGdsTlsGl	1678.1	[M-3H]3-
109	52	1474	AlsMlsAlsGdsCdsGdsTdsCdsGds6dsAdsAdsGdsGlsTls6l	1797.1	[M-3H]3-
110	52	1474	AlsMlsAlsGdsCdsGdsTdsCdsGdsGdsAdsAdsGlsGlsTls6l	1354.3	[M-4H]4-
111	53	1475	GlsAlsMlsAlsGdsCdsGdsTdsCdsGdsGdsAdsAdsGlsGlsTl	1354.4	[M-4H]4-
112	54	1476	GlsAlsMlsAdsGdsCdsGdsTdsCdsGdsGdsAdsAlsGlsGl	5073.96	[M-H]-
113	55	1476	AlsGlsAlsCdsAds6dsCdsGdsTdsCdsGdsGdsAdsAlsGlsGl	1795.1	[M-3H]3-
114	56	1480	MgsMgsTgsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMgsGgsGg	1313.8	[M-4H]4-

[表1-6]

（表１続き）

115	57	1480	GlsCdsMlsTlsAdsGdsAdsCdsAdsGds CdsGdsTlsMlsGdsGl	1334.9	[M-4H]4-
116	58	1480	GlsMlsCdsTlsAdsGdsAdsCdsAdsGds CdsGdsTlsCdsGlsGl	1331.3	[M-4H]4-
117	59	1480	GlsMlsCdsTlsAdsGdsAdsCdsAdsGds CdsGdsTdsMlsGlsGl	1335.1	[M-4H]4-
118	59	1480	GlsMlsCdsTdsAdsGdsAlsCdsAdsGds CdsGdsTdsMlsGlsGl	1335.2	[M-4H]4-
119	60	1480	GlsMlsMlsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsC dsGlsTdsCdsGlsGl	1334.9	[M-4H]4-
120	60	1480	GlsMlsMlsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGls CdsGdsTdsCdsGlsGl	1335.2	[M-4H]4-
121	4	1480	GgsMgsMgsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGds CdsGdsTdsMgsGgsGg	1399.7	[M-4H]4-
122	4	1480	GlsMlsMlsTlsAdsGdsAdsCdsAdsGds CdsGdsTdsMls6ls6l	1345.4	[M-4H]4-
123	4	1480	GmsMmsMmsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGds CdsGdsTdsMms6ms6m	1454.0	[M-4H]4-
124	61	1480	GlsMlsMlsTdsAdsGdsAdsMdsAdsGds MdsGdsTdsMlsGlsGl	1345.3	[M-4H]4-
125	61	1480	GtsMtsMtsTdsAdsGdsAdsMdsAdsGds MdsGdsTdsMtsGtsGt	1189.2	[M-5H]5-
126	61	1480	GusMusMusTdsAdsGdsAdsMdsAdsGds MdsGdsTdsMusGusGu	1143.5	[M-5H]5-
127	61	1480	GmsMmsMmsTdsAdsGdsAdsMdsAdsGds MdsGdsTdsMmsGmsGm	1168.8	[M-5H]5-
128	62	1480	GmsMmsMmsTdsAdsGdsAdsMdsAdsGds MdsGdsUosMmsGmsGm	1172.0	[M-5H]5-
129	62	1480	GmsMmsMmsTdsAdsGdsAdsMdsAdsGds MdsGosUosMmsGmsGm	1178.0	[M-5H]5-
130	63	1480	GmsMmsMmsUosAdsGdsAdsMdsAdsGds MdsGdsTdsMmsGmsGm	1172.0	[M-5H]5-
131	63	1480	GmsMmsMmsUosAosGdsAdsMdsAdsGds MdsGdsTdsMmsGmsGm	1178.0	[M-5H]5-
132	64	1480	GmsMmsMmsUosAdsGdsAdsMdsAdsGds MdsGdsUosMmsGmsGm	1175.2	[M-5H]5-
133	65	214	MlsTlsMlsAdsGdsCdsTdsGdsGdsCds GdsTlsGlsAl	4683.56	[M-H]-
134	66	1323	MlsMlsAlsGdsGdsAdsAdsAdsGdsAds AdsTlsGlsGl	4748.41	[M-H]-
135	67	1458	GlsGlsGlsAdsGdsAdsCdsAdsTdsTds CdsAlsGlsMl	4701.26	[M-H]-
136	68	1495	MlsTlsAlsAdsTdsCdsCdsAdsGdsGds TdsTlsTlsGl	4641.35	[M-H]-

[0389] 実施例６

<u>Ｉｎ　ｖｉｔｒｏ　ＤＵＸ４　ノックダウン活性試験（Ｌｉｐｏｆｅｃｔｉｏｎ法）</u>

ＤＵＸ４修飾オリゴヌクレオチドとＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ　ＲＮＡｉ　Ｒｅａｇｅｎｔを混合したトランスフェクション試薬上に、Ｃ２Ｃ１２細胞を１．２５×１０^{4}　ｃｅｌｌｓ／ｃｍ^{2}となるように播種し、CO_2イン

キュベーターで一晩培養した。翌日、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ ２０００ Ｒｅａｇｅｎｔを用いて、ＤＵＸ４配列をｐｓｉＣＨＥＣＫ－２ ｖｅｃｔｏｒ （Ｐｒｏｍｅｇａ）のマルチクローニングサイトにクローニングしたレポータープラスミドを細胞にトランスフェクションし、CO_2インキュベーターで２４時間程度培養した。その後、Ｄｕａｌ－Ｇｌｏ Ｌｕｃｉｆｅｒａｓｅ Ａｓｓａｙ Ｓｙｓｔｅｍを用いて、細胞内のＦｉｒｅｆｌｙ ｌｕｃｉｆｅｒａｓｅとＲｅｎｉｌｌａ ｌｕｃｉｆｅｒａｓｅ発光値をプレートリーダーで検出した。Ｒｅｎｉｌｌａルシフェラーゼ活性による発光値からトランスフェクション効率や細胞数の影響を補正するために、Ｆｉｒｅｆｌｙルシフェラーゼ活性による発光値との比を算出した。修飾オリゴヌクレオチドを添加した際のＲｅｎｉｌｌａ／Ｆｉｒｅｆｌｙの減少率から阻害率を１００分率で算出し、５０％を挟む２点の濃度とその時の阻害率からIC_{50}値を算出した（表２）。ＤＵＸ４成熟ｍＲＮＡの２３２～２４８位、１３０６～１３２５位または１４７２～１４９５位に相補的である化合物（化合物番号１～１３２）と比較して、化合物番号１３３（配列表の配列番号１の２１４～２２７位に相補的）、１３４（配列表の配列番号１の１３２３～１３３６位に相補的）、１３５（配列表の配列番号１の１４５８～１４７１位に相補的）、１３６（配列表の配列番号１の１４９５～１５０８位に相補的）は阻害率が著しく弱いことが分かった。

[0390] 実施例７

Ｉｎ ｖｉｔｒｏ ＤＵＸ４ ノックダウン活性試験（Ｇｙｍｎｏｓｉｓ法）

ＤＵＸ４修飾オリゴヌクレオチド溶液に、Ｃ２Ｃ１２細胞を6×10^3 ｃｅｌｌｓ／cm^2となるように播種し、CO_2インキュベーターで２晩培養した。２日後、細胞からＤＵＸ４修飾オリゴヌクレオチド溶液含有培地を除去し、新しい培地でＷａｓｈを行った。その後、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ ２０００ Ｒｅａｇｅｎｔを用いて、ＤＵＸ４配列をｐｓｉＣＨＥＣＫ－２ ｖｅｃｔｏｒ （Ｐｒｏｍｅｇａ）のマルチクローニングサイトにクロ

ーニングしたレポータープラスミドを細胞にトランスフェクションし、CO_2インキュベーターで２４時間程度培養した。その後、Ｄｕａｌ－Ｇｌｏ Ｌｕｃｉｆｅｒａｓｅ Ａｓｓａｙ Ｓｙｓｔｅｍを用いて、細胞内のＦｉｒｅｆｌｙ ｌｕｃｉｆｅｒａｓｅとＲｅｎｉｌｌａ ｌｕｃｉｆｅｒａｓｅ発光値をプレートリーダーで検出した。Ｒｅｎｉｌｌａルシフェラーゼ活性による発光値からトランスフェクション効率や細胞数の影響を補正するために、Ｆｉｒｅｆｌｙルシフェラーゼ活性による発光値との比を算出した。修飾オリゴヌクレオチドを添加した際のＲｅｎｉｌｌａ／Ｆｉｒｅｆｌｙの減少率から阻害率を１００分率で算出し、５０％を挟む２点の濃度とその時の阻害率からIC_{50}値を算出した。結果を下記表２に示す。ＤＵＸ４成熟ｍＲＮＡの２３２～２４８位、１３０６～１３２５位または１４７２～１４９５位の領域内の等長部分に相補的な核酸塩基配列を含む化合物（化合物番号１～１３２）と比較して、化合物番号１３３（配列表の配列番号１の２１４～２２７位に相補的）、１３４（配列表の配列番号１の１３２３～１３３６位に相補的）、１３５（配列表の配列番号１の１４５８～１４７１位に相補的）、１３６（配列表の配列番号１の１４９５～１５０８位に相補的）は阻害率が著しく弱いことが分かった。

[表2-1]

表２

化合物番号	IC_{50}[uM]	
	Lipofection法	Gymnosis法
1	0.004	0.108
2	0.008	0.084
3	0.003	0.142
4	0.098	0.829
5	0.027	0.341
6	0.007	0.128
7	0.009	0.378
8	0.022	0.495
9	0.018	0.340
10	0.006	0.182
11	0.008	0.114
12	0.020	0.423
13	0.015	0.242
14	0.002	0.079
15	0.010	0.128
16	0.008	0.091
17	0.006	0.079
18	0.016	0.394
19	0.006	0.158
20	0.018	0.724
21	0.006	0.964
22	0.004	0.280
23	0.007	0.365
24	0.018	0.188
25	0.009	0.447
26	0.043	0.259
27	0.037	0.201
28	0.003	0.080
29	0.010	0.556
30	0.006	0.559
31	0.006	0.117
32	0.007	0.404
33	0.007	0.272
34	0.008	0.073

[表2-2]

〔表２の続き〕

35	0.009	0.105
36	0.006	0.390
37	0.003	0.133
38	0.005	0.125
39	0.006	0.143
40	0.002	0.051
41	0.007	0.184
42	0.008	0.166
43	0.008	0.148
44	0.009	0.174
45	0.023	0.699
46	0.003	0.109
47	0.005	0.181
48	0.005	0.166
49	0.009	0.261
50	0.003	0.206
51	0.005	0.419
52	0.006	0.414
53	0.016	0.164
54	0.010	0.402
55	0.006	0.052
56	<0.03	0.577
57	0.012	0.435
58	0.002	0.058
59	0.002	0.052
60	0.005	0.100
61	0.002	0.048
62	0.003	0.038
63	0.004	0.090
64	0.019	0.426
65	0.002	0.128
66	0.002	0.066
67	0.003	0.188
68	0.013	0.850
69	0.002	0.083
70	0.005	0.111

[表2-3]

（表２の続き）

71	0.002	0.037
72	0.002	0.072
73	0.005	0.292
74	0.002	0.079
75	0.005	0.237
76	0.003	0.073
77	0.004	0.091
78	0.010	0.132
79	0.010	0.099
80	0.009	0.373
81	0.003	0.115
82	0.011	0.529
83	0.003	0.113
84	0.007	0.207
85	0.017	0.400
86	0.005	0.106
87	0.005	0.097
88	0.007	0.154
89	0.019	0.434
90	0.008	0.077
91	0.009	0.148
92	0.015	0.763
93	0.007	0.135
94	<0.03	0.793
95	0.021	0.496
96	0.036	0.306
97	0.009	0.546
98	0.010	0.363
99	0.008	0.624
100	0.014	0.669
101	0.029	0.443
102	0.014	0.657
103	0.011	0.307
104	0.007	0.255
105	0.005	0.122
106	0.006	0.291

[表2-4]

（表２の続き）

107	0.004	0.321
108	0.076	0.877
109	0.075	0.730
110	0.020	0.266
111	0.017	0.223
112	0.050	0.616
113	0.016	0.569
114	0.013	0.259
115	0.011	0.531
116	0.003	0.112
117	0.003	0.092
118	0.015	0.461
119	0.004	0.467
120	0.004	0.456
121	0.008	0.239
122	0.006	0.289
123	0.013	0.154
124	0.003	0.338
125	0.010	0.272
126	0.004	0.159
127	0.003	0.093
128	0.006	0.256
129	0.008	0.088
130	0.003	0.079
131	0.005	0.245
132	0.006	0.294
133	>0.3	>3
134	>0.3	>3
135	0.140	>3
136	>0.3	>3

[0391] 実施例８

修飾オリゴヌクレオチド化合物の合成とＩｎ　ｖｉｔｒｏ　ＤＵＸ４　ノックダウン活性試験（Ｇｙｍｎｏｓｉｓ法）

表３に、新たに合成した修飾オリゴヌクレオチド化合物と、当該化合物についての、実施例７と同様にして行ったＩｎ　ｖｉｔｒｏ　ＤＵＸ４　ノックダウン活性試験の結果を示す。

[0392] なお、表３における化合物の表記は、各ヌクレオチドが３文字で表される。但し３’末端のヌクレオチドはヌクレオシド間結合がないため２文字で表される。

１）第１文字は大文字で表され、下記核酸塩基を示す：

Ａ＝アデニン、Ｔ＝チミン、Ｇ＝グアニン、Ｃ＝シトシン、Ｕ＝ウラシル、Ｍ＝５－メチルシトシン、

２）第２文字は下記各糖部分を示す：

Ｉ＝ＬＮＡ、ｍ＝ＡＬＮＡ［Ｍｓ］、ｅ＝２’－ＭＯＥ、ｏ＝２’－ＯＭｅ、ｄ＝２’－デオキシリボース、

３）第３文字は下記ヌクレオシド間結合を示す：

ｓ＝ホスホロチオエート、ｐ＝ホスホジエステル。

標的位置として、修飾オリゴヌクレオチドのＤＵＸ４成熟ｍＲＮＡの５’標的部位（修飾オリゴヌクレオチドの３’末端に対応する配列表の配列番号１の位置）を示す。

[0393] ＤＵＸ４成熟ｍＲＮＡの１２６～１４７位、２３２～２４８位、１３０６～１３２５位または１４７２～１４９５位の領域内の等長部分に相補的な核酸塩基配列を含む化合物（化合物番号１３７～２４７）と比較して、化合物番号２４８（配列表の配列番号１の１１２～１２７位に相補的）、２４９（配列表の配列番号１の１６２～１７７位に相補的）、２５０（配列表の配列番号１の２６４～２７９位に相補的）、２５１（配列表の配列番号１の１２

７３～１２８８位に相補的）は阻害率が著しく弱いことが分かった。

[0394] 表３

[表3-1]

化合物番号	配列番号	標的位置	配列	m/z	イオン種	IC50(uM) Gymnosis法
137	75	128	GmsTmsGmsGdsCdsGdsAdsTdsGdsCdsCdsCdsGdsGmsGmsTm	1940.3	[M-3H]3-	0.112
138	79	1304	GmsMmsAdsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsCdsGdsGdsTdsGdsTdsGdsGmsAm	1725.0	[M-4H]4-	<0.3
139	81	1307	AmsTmsGdsGdsCdsAdsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsCdsGdsGdsTdsGmsTm	2287.8	[M-3H]3-	<0.3
140	80	1306	GmsGmsCdsAdsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsCdsGdsGdsTdsGdsTmsGm	2185.0	[M-3H]3-	<0.3
141	82	1307	TmsGmsGdsCdsAdsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsCdsGdsGdsTdsGmsTm	2177.9	[M-3H]3-	<0.3
142	95	1307	GmsGmsCdsAdsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsCdsGdsGdsTdsGmsTm	2070.5	[M-3H]3-	<0.3
143	83	1308	TmsGmsGdsCdsAdsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsCdsGdsGdsTmsGm	2070.8	[M-3H]3-	<0.3
144	16	1307	GmsMmsAmsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsCdsGdsGdsTmsGmsTm	2030.0	[M-3H]3-	0.180
145	23	1308	GmsGmsMmsAdsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsCdsGdsGmsTmsGm	2038.1	[M-3H]3-	0.180
146	84	1476	GmsMmsCdsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsCdsGdsGdsAdsAdsGmsGm	2308.5	[M-3H]3-	<0.3
147	87	1479	TmsTmsTdsGdsCdsCdsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsCdsGdsGmsAm	2284.2	[M-3H]3-	<0.3
148	90	1480	GmsTmsTdsTdsGdsCdsCdsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsCdsGmsGm	2290.1	[M-3H]3-	<0.3
149	88	1479	TmsGmsCdsCdsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsCdsGdsGmsAm	2071.2	[M-3H]3-	<0.3
150	91	1480	TmsTmsGdsCdsCdsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsCdsGmsGm	2068.4	[M-3H]3-	<0.3
151	89	1479	GmsMmsMmsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsCdsGmsGmsAm	2044.0	[M-3H]3-	0.237
152	92	1480	TmsGmsMmsCdsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMmsGmsGm	2042.6	[M-3H]3-	<0.3
153	4	1480	GmsMmpMmsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMmpGmsGm	1928.3	[M-3H]3-	0.077
154	4	1480	GmpMmpMmsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMmpGmpGm	1917.5	[M-3H]3-	<0.3
155	60	1480	GmsMmsMmsTmsAmsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsCdsGdsGd	1898.8	[M-3H]3-	<0.3
156	102	1480	GmsMmsMmsUosAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMmsGmsGm	1944.3	[M-3H]3-	0.023
157	4	1480	GmsMmsMmsTdsAosGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMmsGmsGm	1949.0	[M-3H]3-	0.029
158	4	1480	GmsMmsMmsTdsAdsGosAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMmsGmsGm	1949.0	[M-3H]3-	0.070
159	4	1480	GmsMmsMmsTdsAdsGdsAosCdsAdsGdsCdsGdsTdsMmsGmsGm	1948.9	[M-3H]3-	<0.3
160	4	1480	GmsMmsMmsTdsAdsGdsAdsCosAdsGdsCdsGdsTdsMmsGmsGm	1949.3	[M-3H]3-	0.565
161	4	1480	GmsMmsMmsTdsAdsGdsAdsCdsAosGdsCdsGdsTdsMmsGmsGm	1949.0	[M-3H]3-	0.024
162	4	1480	GmsMmsMmsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGosCdsGdsTdsMmsGmsGm	1948.6	[M-3H]3-	<0.3
163	4	1480	GmsMmsMmsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCosGdsTdsMmsGmsGm	1949.0	[M-3H]3-	0.097
164	4	1480	GmsMmsMmsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGosTdsMmsGmsGm	1949.3	[M-3H]3-	<0.3
165	103	1480	GmsMmsMmsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsUosMmsGmsGm	1943.8	[M-3H]3-	0.125
166	102	1480	GmsMmsMmsUosAosGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMmsGmsGm	1954.1	[M-3H]3-	0.057
167	108	1480	GmsMmsMmsUosAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsUosMmsGmsGm	1950.0	[M-3H]3-	0.056
168	103	1480	GmsMmsMmsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGosUosMmsGmsGm	1954.4	[M-3H]3-	0.078
169	93	1480	GlsMlsMlsTdsAosGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMlsGlsGl	1794.8	[M-3H]3-	0.049
170	104	1480	GlsMlsMlsUosAosGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMlsGlsGl	1800.2	[M-3H]3-	0.025
171	93	1480	GlsMlpMlsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMlpGlsGl	1774.1	[M-3H]3-	0.012
172	93	1480	GlpMlpMlsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMlpGlpGl	1763.4	[M-3H]3-	<0.3
173	105	1480	GmsMmsMmsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMlsGlsGl	1862.3	[M-3H]3-	0.056
174	106	1480	GlsMlsMlsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMmsGmsGm	1861.9	[M-3H]3-	0.019
175	4	1480	GmsMmsMmsTesAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMmsGmsGm	1963.8	[M-3H]3-	0.090
176	4	1480	GmsMmsMmsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTesMmsGmsGm	1963.7	[M-3H]3-	0.019
177	4	1480	GmsMmsMmsTesAesGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMmsGmsGm	1988.4	[M-3H]3-	<0.3
178	4	1480	GmsMmsMmsTesAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTesMmsGmsGm	1988.9	[M-3H]3-	<0.3
179	4	1480	GmsMmsMmsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGesTesMmsGmsGm	1987.8	[M-3H]3-	<0.3
180	107	1480	GesMesMmsTmsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTmsMmsGesGe	1968.2	[M-3H]3-	<0.3
181	107	1480	GmsMesMmsTesAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTesMmsGesGm	1967.8	[M-3H]3-	<0.3
182	106	1480	GesMesMesTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMmsGmsGm	1907.5	[M-3H]3-	<0.3
183	106	1480	GesMesMesTesAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMmsGmsGm	1932.8	[M-3H]3-	<0.3
184	106	1480	GesMesMesTesAesGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMmsGmsGm	1956.7	[M-3H]3-	<0.3
185	105	1480	GmsMmsMmsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMesGesGe	1908.5	[M-3H]3-	<0.3
186	105	1480	GmsMmsMmsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTesMesGesGe	1932.8	[M-3H]3-	<0.3
187	105	1480	GmsMmsMmsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGesTesMesGesGe	1957.8	[M-3H]3-	<0.3
188	93	1480	GlsMlsMlsTdsAesGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMlsGlsGl	1809.6	[M-3H]3-	0.064
189	93	1480	GlsMlsMlsTesAesGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMlsGlsGl	1833.8	[M-3H]3-	0.161
190	93	1480	GesMesMesTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMlsGlsGl	1831.4	[M-3H]3-	<0.3
191	93	1480	GlsMlsMlsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMesGesGe	1831.0	[M-3H]3-	0.476
192	93	1480	GlsMesMlsTesAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTesMlsGesGl	1865.0	[M-3H]3-	<0.3
193	93	1480	GesMlsMesTlsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTlsMesGlsGe	1865.4	[M-3H]3-	<0.3
194	93	1480	GesMesMlsTlsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTlsMlsGesGe	1865.0	[M-3H]3-	<0.3
195	93	1480	GlsMlsMesTesAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTesMesGlsGl	1865.3	[M-3H]3-	<0.3

[0395] 表３．続き

[表3-2]

196	85	1477	GmsMmsCdsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsCdsGdsGdsAdsAmsGm	2194.2	[M-3H]3-	<0.3
197	86	1478	TmsGmsCdsCdsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsCdsGdsGdsAmsAm	2181.4	[M-3H]3-	<0.3
198	71	127	GmsGmsTdsGdsGdsCdsGdsAdsTdsGdsCdsCdsCdsGdsGdsGdsTmsAm	2096.4	[M-3H]3-	0.964
199	72	127	GmsTmsGmsGdsCdsGdsAdsTdsGdsCdsCdsCdsGdsGdsGmsTmsAm	2050.1	[M-3H]3-	0.786
200	76	128	GmsGmsTmsGdsGdsCdsGdsAdsTdsGdsCdsCdsCdsGdsGmsGmsTm	2055.7	[M-3H]3-	0.451
201	69	126	GmsGmsMmsGdsAdsTdsGdsCdsCdsCdsGdsGdsGdsTmsAmsMm	1940.1	[M-3H]3-	0.866
202	73	127	TmsGmsGmsCdsGdsAdsTdsGdsCdsCdsCdsGdsGdsGmsTmsAm	1936.3	[M-3H]3-	0.269
203	75	128	GmsTmsGmsGosCdsGdsAdsTdsGdsCdsCdsCdsGdsGmsGmsTm	1950.9	[M-3H]3-	0.300
204	75	128	GmsTmsGmsGdsCosGdsAdsTdsGdsCdsCdsCdsGdsGmsGmsTm	1950.9	[M-3H]3-	0.298
205	75	128	GmsTmsGmsGdsCdsGosAdsTdsGdsCdsCdsCdsGdsGmsGmsTm	1951.4	[M-3H]3-	0.370
206	75	128	GmsTmsGmsGdsCdsGdsAosTdsGdsCdsCdsCdsGdsGmsGmsTm	1951.6	[M-3H]3-	0.709
207	106	128	GmsTmsGmsGdsCdsGdsAdsUosGdsCdsCdsCdsGdsGmsGmsTm	1946.8	[M-3H]3-	0.326
208	75	128	GmsTmsGmsGdsCdsGdsAdsTdsGosCdsCdsCdsGdsGmsGmsTm	1951.4	[M-3H]3-	0.200
209	75	128	GmsTmsGmsGdsCdsGdsAdsTdsGdsCosCdsCdsGdsGmsGmsTm	1950.5	[M-3H]3-	0.611
210	75	128	GmsTmsGmsGdsCdsGdsAdsTdsGdsCdsCosCdsGdsGmsGmsTm	1463.0	[M-4H]4-	0.467
211	75	128	GmsTmsGmsGdsCdsGdsAdsTdsGdsCdsCdsCosGdsGmsGmsTm	1950.9	[M-3H]3-	0.345
212	75	128	GmsTmsGmsGdsCdsGdsAdsTdsGdsCdsCdsCdsGosGmsGmsTm	1951.2	[M-3H]3-	0.516
213	3	1309	GmsMmsAmsGosTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsCdsGmsGmsTm	1818.9	[M-3H]3-	0.074
214	107	1309	GmsMmsAmsGdsUosTdsCdsTdsCdsCdsGdsCdsGmsGmsTm	1814.6	[M-3H]3-	0.092
215	108	1309	GmsMmsAmsGdsTdsUosCdsTdsCdsCdsGdsCdsGmsGmsTm	1814.2	[M-3H]3-	0.237
216	109	1309	GmsMmsAmsGdsTdsTdsCdsUosCdsCdsGdsCdsGmsGmsTm	1814.2	[M-3H]3-	0.215
217	3	1309	GmsMmsAmsGdsTdsTdsCdsTdsCosCdsGdsCdsGmsGmsTm	1818.3	[M-3H]3-	0.225
218	3	1309	GmsMmsAmsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCosGdsCdsGmsGmsTm	1818.4	[M-3H]3-	0.164
219	3	1309	GmsMmsAmsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGosCdsGmsGmsTm	1819.3	[M-3H]3-	0.082
220	3	1309	GmsMmsAmsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsCosGmsGmsTm	1818.8	[M-3H]3-	0.123
221	75	128	GmsTmsGmsGdsCdsGdsAdsTdsGdsCcsCdsCdsGesGesGesTe	1934.6	[M-3H]3-	0.279
222	96	128	GmsTmsGmsGdsCdsGdsAdsTdsGdsCdsCdsMesGesGesGesTe	1472.7	[M-4H]4-	0.285
223	75	128	GmsTmsGmsGdsCdsGdsAdsTdsGdsCdsCdsCdsGmsGesGesTe	1944.9	[M-3H]3-	0.527
224	3	1309	GmsMmsAmsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsCdsGesGesTe	1777.3	[M-3H]3-	0.737
225	27	1309	GmsMmsAmsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsMesGesGesTe	1807.2	[M-3H]3-	0.741
226	27	1309	GmsMmsAmsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsMmsGesGesTe	1818.1	[M-3H]3-	0.252
227	21	1308	GmsMmsAmsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsCdsGmsGesTesGe	1927.9	[M-3H]3-	0.205
228	16	1307	GmsMmsAmsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsCdsGmsGmsTmsGesTe	2069.3	[M-3H]3-	0.300
229	79	1304	GmsMmsAmsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsCdsGmsGmsTmsGesTesGesGesAe	1870.3	[M-4H]4-	0.570
230	78	232	GmsAmsGmsAdsTdsTdsCdsCdsCdsGdsCdsMmsGmsGmsTesGe	1975.8	[M-3H]3-	0.471
231	78	232	GmsAmsGmsAdsTdsTdsCdsCdsCdsGdsCdsMmsGmsGesTesGe	1965.6	[M-3H]3-	0.491
232	75	128	GmsTmpGmsGdsCdsGdsAdsTdsGdsCdsCdsCdsGdsGmpGmsTm	1930.1	[M-3H]3-	0.554
233	75	128	GmpTmpGmsGdsCdsGdsAdsTdsGdsCdsCdsCdsGdsGmpGmpTm	1439.4	[M-4H]4-	0.596
234	70	126	GmsTmsGmsGdsCdsGdsAdsTdsGdsCdsCdsCdsGdsGdsGdsTmsAmsMm	2156.7	[M-3H]3-	0.759
235	74	127	MmsTmsGmsGdsTdsGdsGdsCdsGdsAdsTdsGdsCdsCdsCdsGdsGdsGmsTmsAm	1784.3	[M-4H]4-	0.434
236	77	128	TmsMmsTmsGdsGdsTdsGdsGdsCdsGdsAdsTdsGdsCdsCdsCdsGdsGmsGmsTm	1781.7	[M-4H]4-	0.509
237	74	127	MmsTmsGmsGdsTdsGosGdsCdsGdsAdsTdsGdsCdsCdsCdsGdsGdsGmsTmsAm	1791.1	[M-4H]4-	0.262
238	74	127	MmsTmsGmsGdsTdsGdsGosCdsGdsAdsTdsGdsCdsCdsCdsGdsGdsGmsTmsAm	1791.1	[M-4H]4-	0.281
239	74	127	MmsTmsGmsGdsTdsGdsGdsCosGdsAdsTdsGdsCdsCdsCdsGdsGdsGmsTmsAm	1791.2	[M-4H]4-	0.377
240	74	127	MmsTmsGmsGdsTdsGdsGdsCdsGosAdsTdsGdsCdsCdsCdsGdsGdsGmsTmsAm	1791.2	[M-4H]4-	0.229
241	75	128	GmsTmsGmsGdsCosGdsAdsTdsGdsCdsCdsCdsGesGesGesTe	1943.8	[M-3H]3-	0.861
242	21	1308	GmsMmsAmsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsCdsGdsGesTesGe	1893.1	[M-3H]3-	0.529
243	21	1308	GmsMmsAmsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsCdsGesGesTesGe	1917.3	[M-3H]3-	0.379
244	74	127	MmsTmsGmsGdsTdsGdsGdsCdsGdsAdsTdsGdsCdsCdsCdsGosGdsGmsTmsAm	1791.2	[M-4H]4-	0.822
245	74	127	MmsTmsGmsGdsTdsGdsGdsCdsGdsAdsTdsGdsCdsCdsCdsGdsGosGmsTmsAm	1791.8	[M-4H]4-	0.812
246	94	1308	GmsMmsAmsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsMesGesGesTesGe	1947.0	[M-3H]3-	0.866
247	51	1474	MlsAlsGlsCdsGdsTdsCdsGdsGdsAdsAdsGdsGlsTlsGl	1686.8	[M-3H]3-	>0.538
248	98	112	AmsMmsGmsGdsGdsTdsTdsCdsCdsGdsCdsTdsCdsAmsAmsAm	1436.6	[M-4H]4-	>0.3
249	99	162	MmsGmsGmsAdsAdsTdsGdsCdsCdsGdsAdsTdsGdsGmsMmsMm	1454.4	[M-4H]4-	>0.3
250	100	264	TmsTmsMmsTdsGdsGdsCdsGdsGdsGdsCdsCdsGdsMmsGmsTm	1450.1	[M-4H]4-	>0.3
251	101	1273	TmsAmsGmsAdsCdsCdsCdsCdsGdsCdsGdsTdsCdsMmsTmsAm	1420.5	[M-4H]4-	>0.3

[0396] 実施例９

<u>Ｉｎ　ｖｉｖｏ　ＤＵＸ４　ノックダウン活性試験</u>

配列表の配列番号１のＤＵＸ４成熟ｍＲＮＡを組み込んだアデノ随伴ウイルスベクターＡＡＶ－ＤＵＸ４（ＳｉｇｎａＧｅｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，　Ｃａｔ．＃ＳＬ１００８６２）を作製した。８週齢のＣ５７ＢＬ／６Ｊマウス（雄性、日本チャールスリバー）の前脛骨筋に、イソフルラン（ファイザー株式会社）麻酔下にて、ＡＡＶ－ＤＵＸ４を１Ｅ＋１０ＶＧ／５０　μＬ筋肉内投与した。３日後に、ＤＵＸ４を標的とした修飾オリゴヌクレオチドを、１、３、１０および５０ｍｇ／５ｍＬ／ｋｇとなるように生理食塩水で調製し、８週齢のＣ５７ＢＬ／６Ｊマウス（雄性、日本チャールスリバー）に尾静脈内投与した。７２時間後に頸椎脱臼あるいはイソフルラン（ファイザー株式会社）麻酔下にて腹部大静脈より全採血を行い、致死させた。致死後、前脛骨筋を採取し、ＲＮＡｌａｔｅｒ　Ｓｏｌｎ．（ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）に浸漬させた後、－８０℃にて凍結した。組織にＭａｘｗｅｌｌ　ＲＳＣ　ｓｉｍｐｌｙＲＮＡ　Ｔｉｓｓｕｅ　Ｋｉｔ（Ｐｒｏｍｅｇａ）のホモジネーションバッファーを加え、マルチビーズショッカーを用いて破砕し、キット記載のプロトコールに従ってＲＮＡを精製した。ＲＮＡ４００　ｎｇを逆転写し、得られたｃＤＮＡを用いて定量ＰＣＲを行った。修飾オリゴヌクレオチドのノックダウン活性は、ＤＵＸ４の１８Ｓ　ｒＲＮＡに対する量比を、ｖｅｈｉｃｌｅ群に対する相対値で示した。１、３、１０および５０ｍｇ／５ｍＬ／ｋｇの場合の結果を図１～４に示す。化合物番号１（ＤＵＸ４成熟ｍＲＮＡの２３３位～２４８位に相補的配列）、化合物番号２（ＤＵＸ４成熟ｍＲＮＡの１３０９位～１３２３位に相補的配列）、化合物番号３（ＤＵＸ４成熟ｍＲＮＡの１４８０位～１４９５位に相補的配列）、化合物番号１３（ＤＵＸ４成熟ｍＲＮＡの２３４位～２４７位に相補的配列）、化合物番号４１（ＤＵＸ４成熟ｍＲＮＡの１３０８位～１３２３位に相補的配列）、化合物番号５４（ＤＵＸ４成熟ｍＲＮＡの１３０９位～１３２３位に相補的配列）、化合物番号５７（ＤＵＸ４成熟ｍＲＮＡの１３０９位～１３２３位に相補的配列）、化合物番号６８（ＤＵＸ４成熟ｍＲＮＡの１３０９位～１３２３位に相補的配列）、化合物番号７８（ＤＵＸ４成

熟ｍＲＮＡの１３０９位～１３２４位に相補的配列）、化合物番号８８（ＤＵＸ４成熟ｍＲＮＡの１３１０位～１３２３位に相補的配列）、化合物番号１０４（ＤＵＸ４成熟ｍＲＮＡの１４７３位～１４８８位に相補的配列）、化合物番号１２２（ＤＵＸ４成熟ｍＲＮＡの１４８０位～１４９５位に相補的配列）は生体に投与しても、筋肉内でのＤＵＸ４遺伝子の発現を抑制することができた。

[0397] 実施例１０

修飾オリゴヌクレオチドの安全性

化合物番号３、４２、１２３を、６週齢のＩＣＲマウス（雄性、日本チャールスリバー）に最大１００ｍｇ／ｋｇの投与量で静脈内投与したところ、肝毒性（血液中のＡＬＴ、ＡＳＴの上昇、及び病理組織学的異常所見）、腎毒性（血液中のＵＮ、クレアチニンの上昇、及び病理組織学的異常所見）、一般症状変化、死亡などの所見は観察されなかった。

[0398] 実施例１１

In vivo Tgマウス　DUX4 ノックダウン活性試験

9週齢の雄のFLExDUX4-heteto/HSA-MCM-hetero:TG (DUX4-Tg)およびFLExDUX4-wild/HSA-MCM-hetero:TG (MCM, control)を用いた（雄性, The Jackson Laboratoryより日本チャールス・リバー株式会社へ導入）。DUX4を標的とした修飾オリゴヌクレオチドを、各用量の投与液を５mL／ｋｇとなるように生理食塩水で調製し、週1回，尾静脈内投与した．4週投与終了1週後，イソフルラン深麻酔下で腹部大静脈より全採血を行い，安楽死させた．EDTA血漿を分離し，クレアチンキナーゼ（CK）測定に供した。下肢の筋肉を採取し，湿重量を測定し，遺伝子発現解析に供した。

図５および図６に示すように、化合物番号３および化合物番号１２３はDUX4のmRNA発現を抑制した。また，筋障害マーカーであるCKの血中レベルを低下させた。一方、化合物番号１１３および化合物番号２４７は明確なDUX4 mRNA発現および血中CKレベルに対する作用は認められなかった。

[0399] 実施例１２

マウス連投毒性試験

６週齢のＩＣＲマウス（雄性、日本チャールスリバー）に、DUX4を標的とした修飾オリゴヌクレオチドを、１００ｍｇ／５mL／ｋｇとなるように生理食塩水で調製し、４日間連日尾静脈内投与した。最終投与７２時間後にイソフルラン麻酔下にて後大静脈より採血を行い、臨床生化学検査を実施した。また放血致死後、剖検を行い、肝臓及び腎臓の病理組織学的検査を実施した。化合物番号１２３には投与後に死亡及び一般状態、摂餌量及び体重には変化は認められず、肝毒性（血清中のＡＬＴ、ＡＳＴの上昇、及び病理組織学的異常所見）、腎毒性（血清中のＵＮ、クレアチニンの上昇、及び病理組織学的異常所見）は観察されなかった。一方、化合物番号１１３及び化合物番号２４７については投与後に死亡及び一般状態、摂餌量及び体重には変化は認められなかったものの、いずれも明確な肝毒性（血清中のＡＬＴ、ＡＳＴ、ＧＬＤＨ、ＡＬＰ、ビリルビン、胆汁酸の上昇、病理組織学的異常所見：肝細胞の変性壊死、肝細胞肥大）及び腎毒性（血清中のクレアチニンの上昇）が認められた。また、当該試験条件下における化合物番号１２３の肝臓及び腎臓中濃度は、それぞれ３２３及び２５１μｇ／ｇであり、化合物番号２４７の肝臓及び腎臓中濃度１１１及び１８５μｇ／ｇ、化合物番号１１３の肝臓及び腎臓中濃度３９．３及び２３５μｇ／ｇと比較して同等以上の組織中濃度であるにも関わらず肝及び腎毒性は認められなかった。

[0400] [表4]

表４．マウス連投試験血液生化学検査

検査項目	対照群	化合物番号123	対照群	化合物番号247	化合物番号113
AST（U/L）	53.8	60.2	38.0	1187.0	1355.8
ALT（U/L）	30.4	38.6	17.6	2300.2	1282.8
GLDH（U/L）	16.0	36.0	7.0	813.2	768.8
ALP（U/L）	340.2	345.2	204.2	1063.8	640.6
T-Bil（mg/dL）	0.086	0.052	0.106	1.208	0.298
D-Bil（mg/dL）	0.024	0.012	0.044	1.086	0.238
I-Bil（mg/dL）	0.062	0.040	0.062	0.122	0.060
TBA（μmol/L）	0.80	1.60	0.90	28.02	63.32
UN（mg/dL）	20.34	18.62	18.32	23.02	23.20
Cre（mg/dL）	0.056	0.054	0.062	0.126	0.152

[0401] [表5]

表５．マウス連投試験病理所見

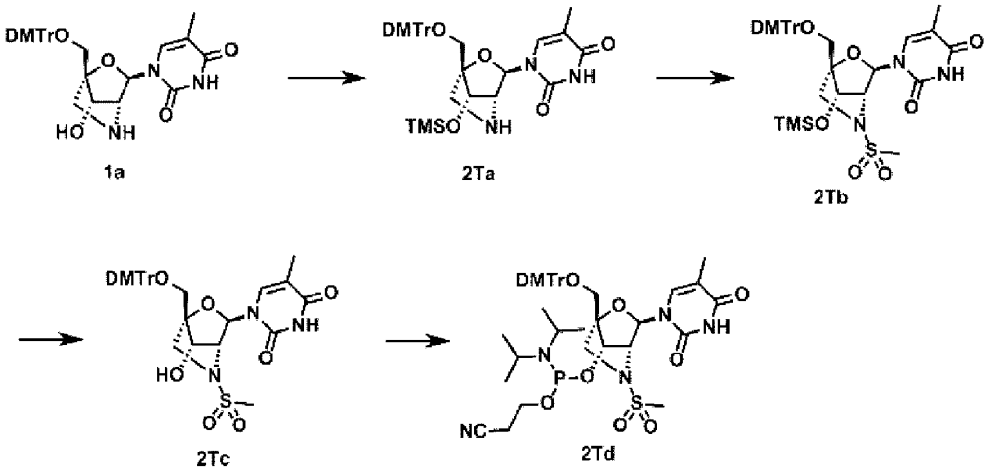
病理所見	対照群	化合物番号123	対照群	化合物番号247	化合物番号113
肝細胞の変性壊死	0/5	0/5	0/5	3/5	4/5
肝細胞肥大	0/5	0/5	0/5	4/5	5/5

[0402] 参考例

ＡＬＮＡ［Ｍｓ］含有ヌクレオチド、ＡＬＮＡ［ｍＵ］含有ヌクレオチド、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］含有ヌクレオチド、ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］含有ヌクレオチド、ＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］含有ヌクレオチドの合成法のスキームを以下に示す。なお、出発化合物１ａ，１ｄ，１ｇは国際公開第２０１７／０４７８１６号に記載された方法で合成することができる。

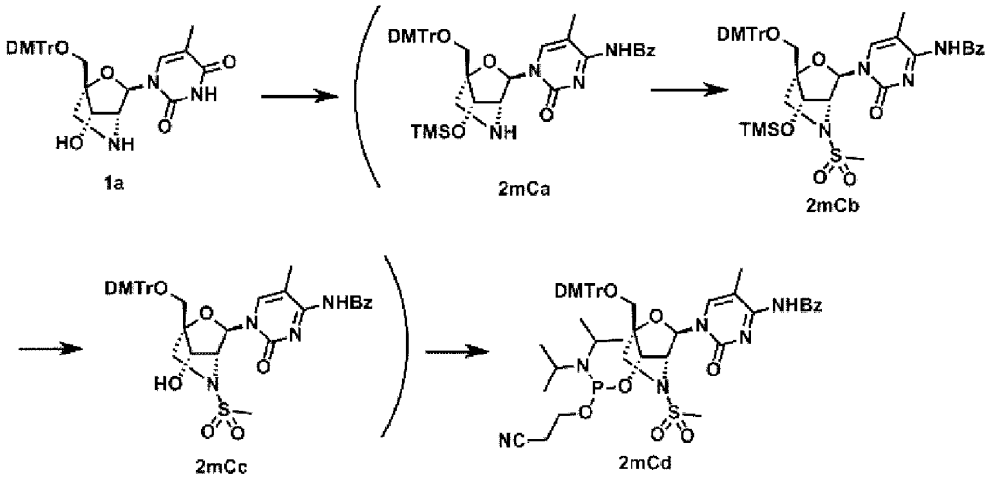
[0403] ＡＬＮＡ［Ｍｓ］－Ｔの合成

[化36]



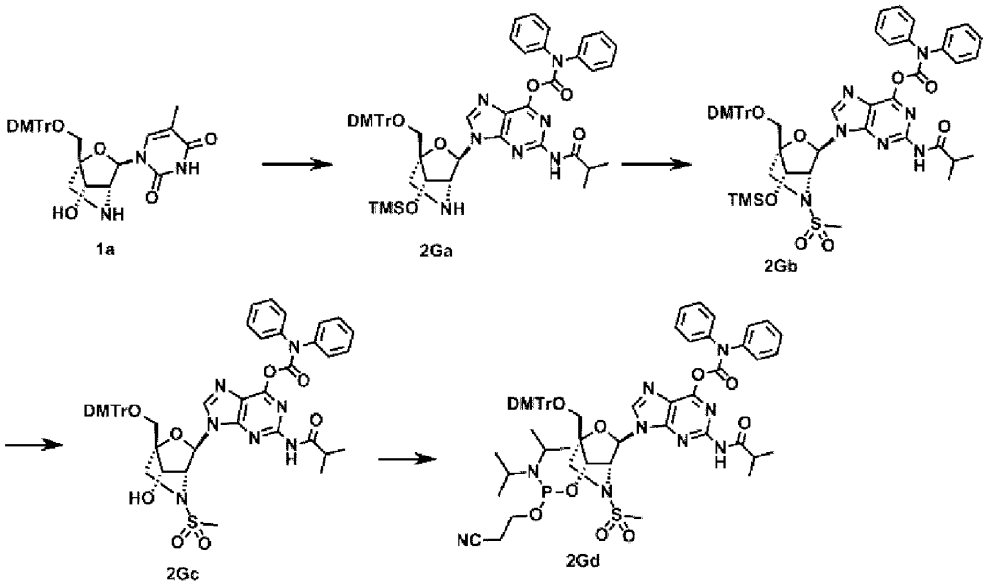
[0404] ＡＬＮＡ［Ｍｓ］－ｍＣの合成

[化37]



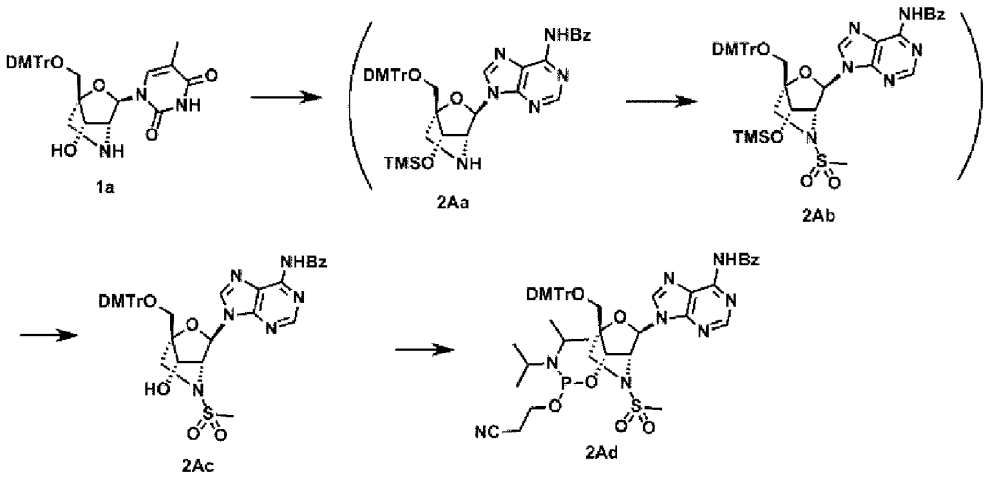
[0405] ＡＬＮＡ［Ｍｓ］－Ｇの合成

[化38]



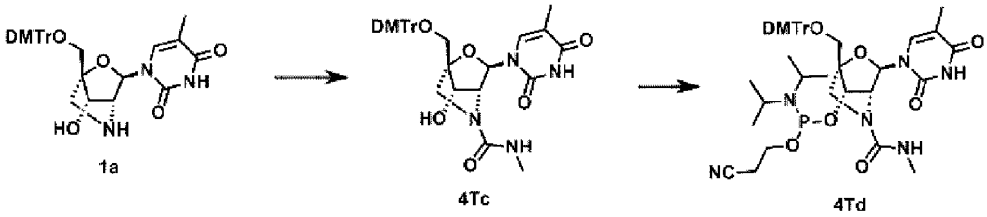
[0406] ＡＬＮＡ［Ｍｓ］－Ａの合成

[化39]



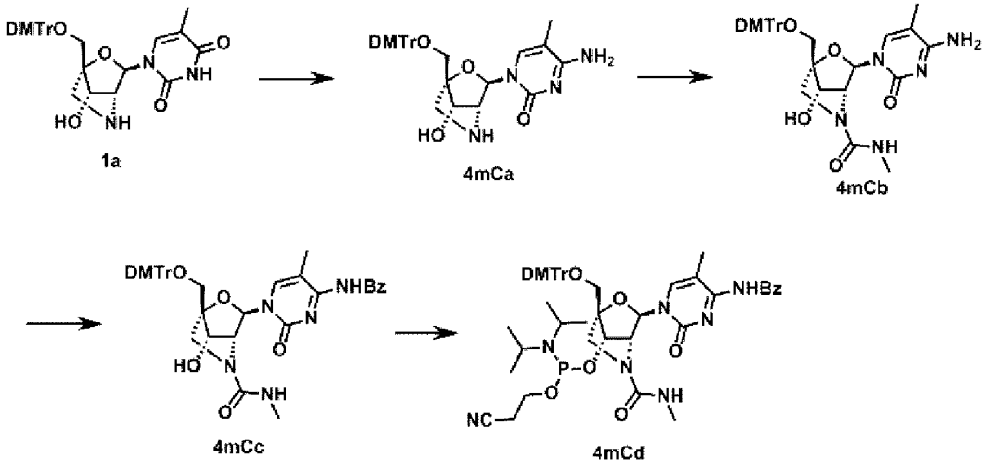
[0407] ＡＬＮＡ［ｍＵ］－Ｔの合成

[化40]



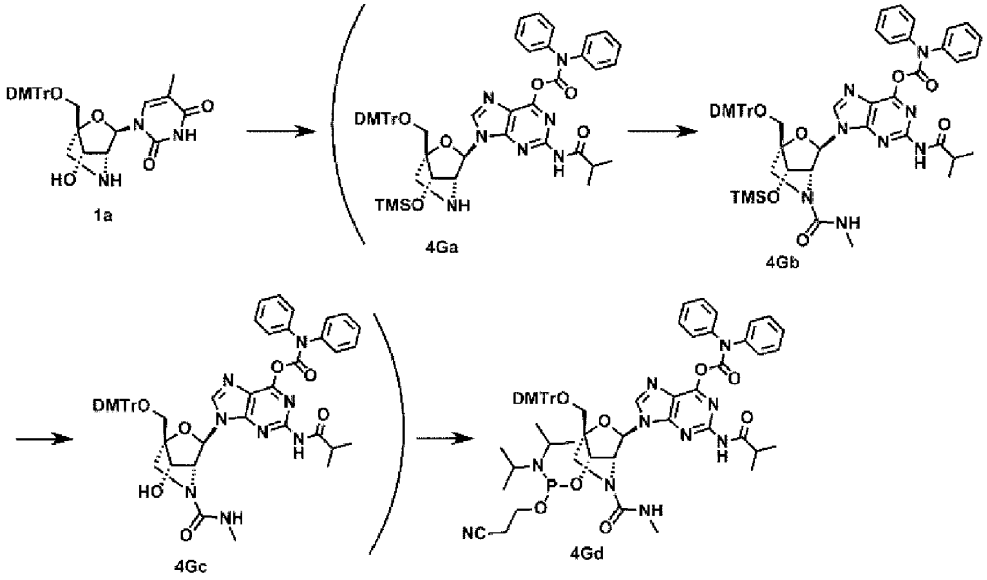
[0408] ＡＬＮＡ［ｍＵ］－ｍＣの合成

[化41]



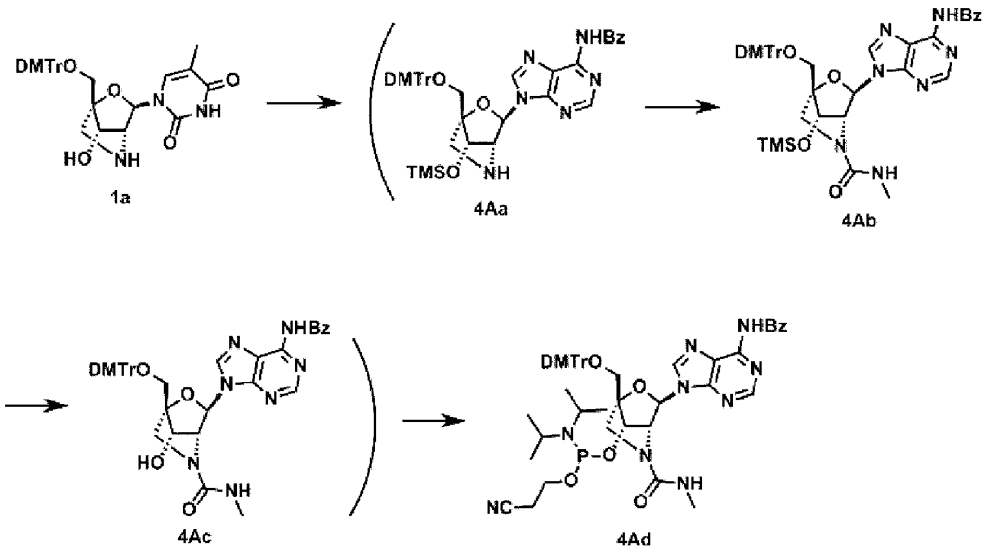
[0409] ＡＬＮＡ［ｍＵ］－Ｇの合成

[化42]



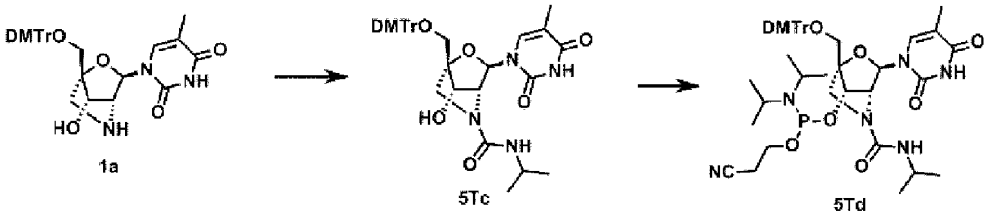
[0410] ＡＬＮＡ［ｍＵ］－Ａの合成

[化43]



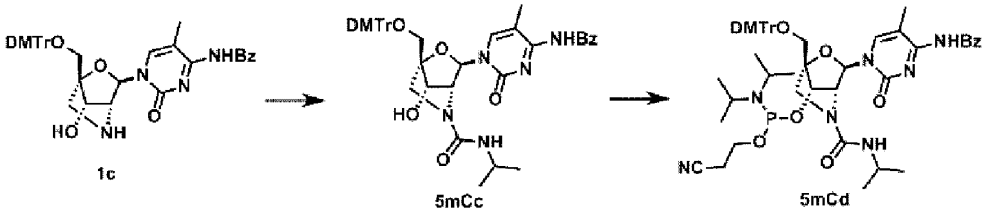
[0411] ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］－Ｔの合成

[化44]



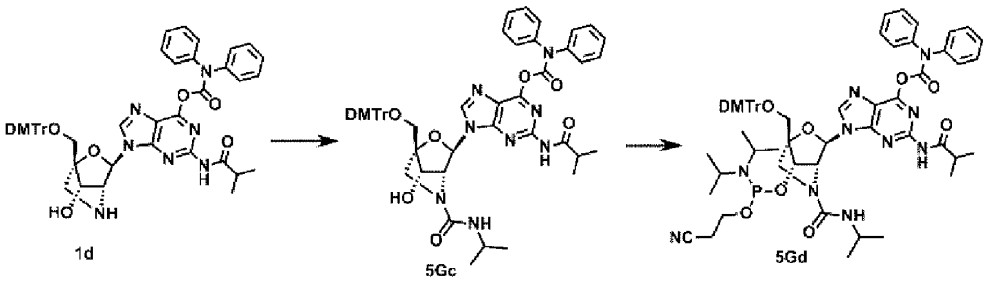
[0412] ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］－ｍＣの合成

[化45]



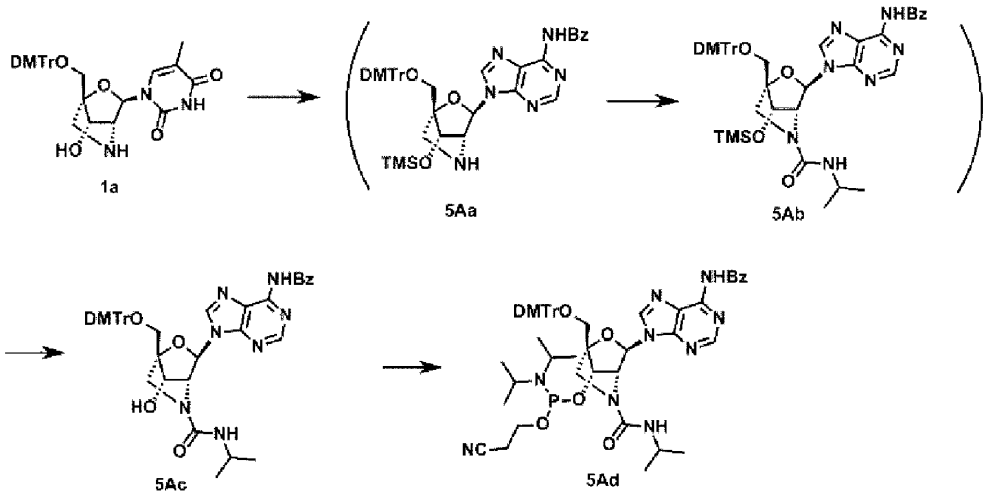
[0413] ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］－Ｇの合成

[化46]



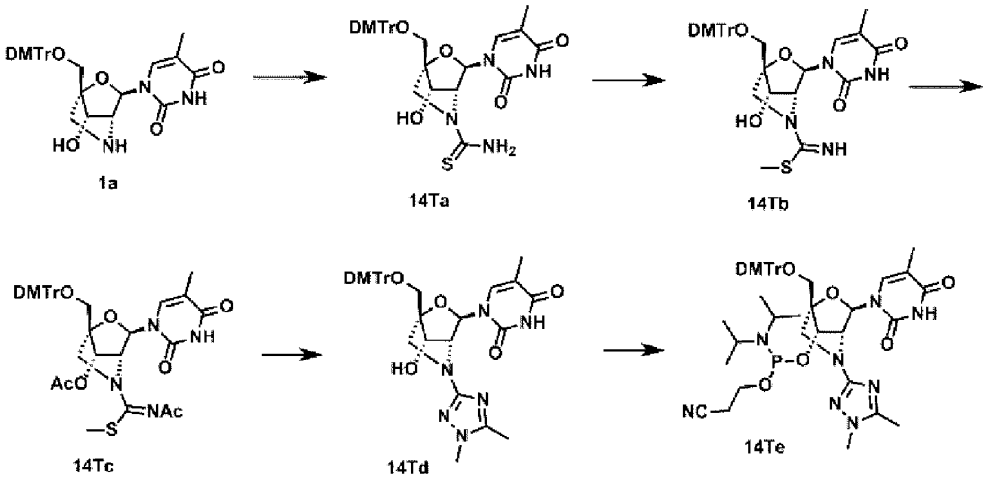
[0414] ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］－Ａの合成

[化47]



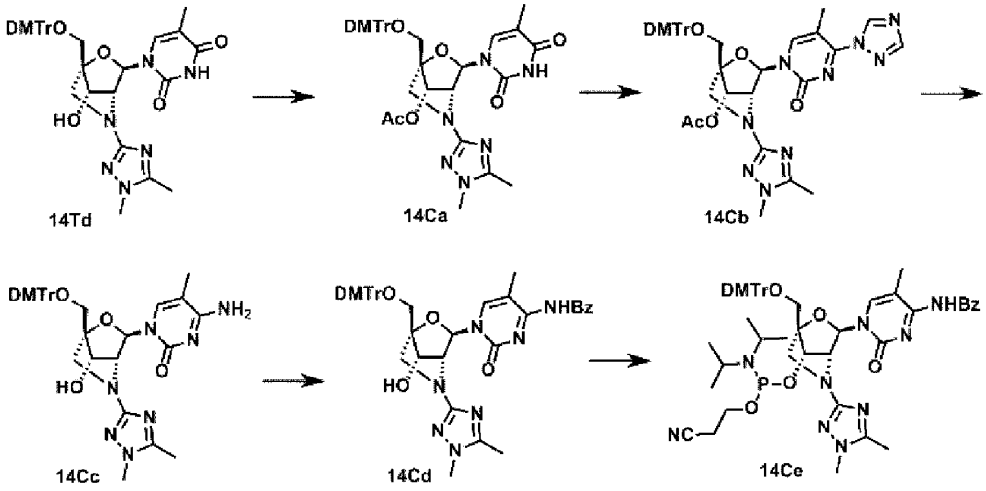
[0415] ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］－Ｔの合成

[化48]



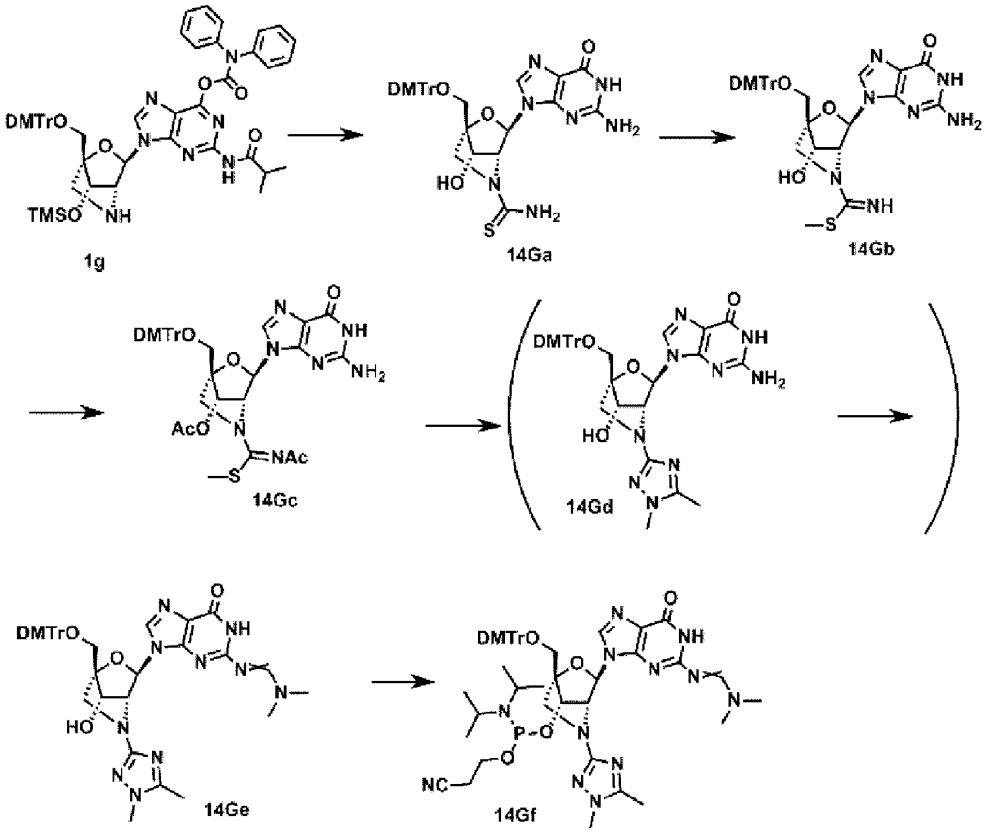
[0416] ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］－ｍＣの合成

[化49]



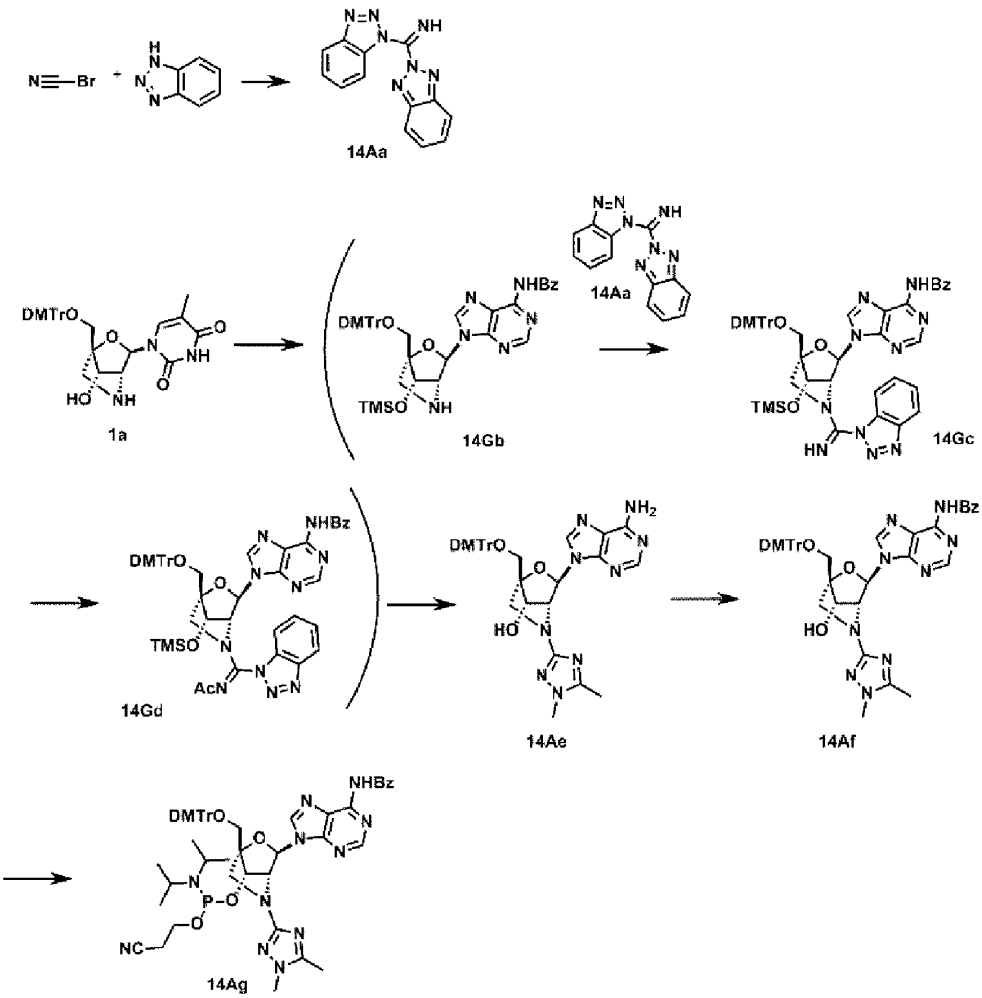
[0417] ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］－Ｇの合成

[化50]



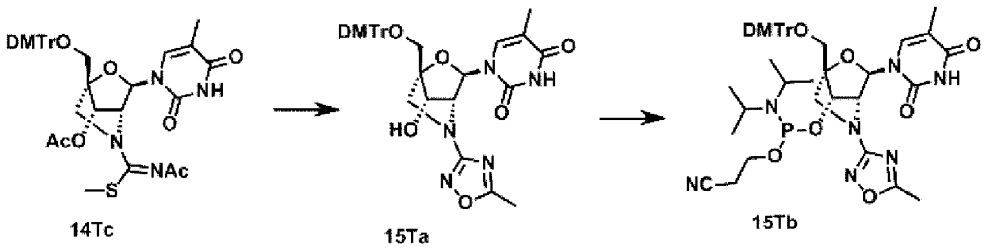
[0418] ＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］－Ａの合成

[化51]



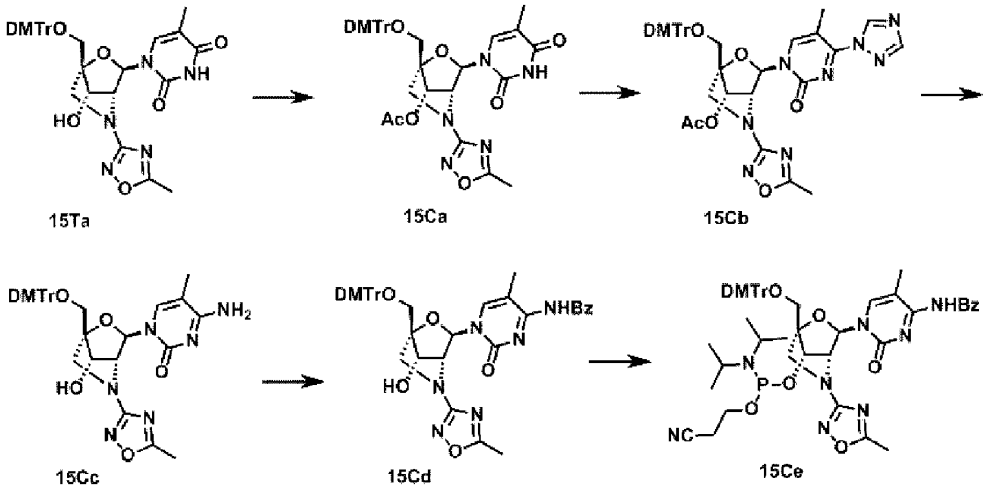
[0419] ＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］－Ｔの合成

[化52]



[0420] ＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］－ｍＣの合成

[化53]



産業上の利用可能性

[0421] 本発明の修飾オリゴヌクレオチドは、ＤＵＸ４関連疾患の治療、予防またはその進行の遅延化に有用な化合物として利用可能である。

[0422] ［配列表フリーテキスト］

配列表の配列番号１は、ＤＵＸ４　成熟ｍＲＮＡの塩基配列を示す。

配列表の配列番号２～４、および７～１１２は、修飾オリゴヌクレオチドの塩基配列を示す。

配列表の配列番号５～６は、配列番号１のスプライシングバリアントとしてのＤＵＸ４－ＦＬ２およびＤＵＸ４－ｓのそれぞれの塩基配列を示す。

請求の範囲

[請求項1] １２～３０残基からなる修飾オリゴヌクレオチドであって、

少なくとも８個の連続する核酸塩基配列であって、配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基配列の５’末端から１２６～１４７位、２３２～２４８位、１３０６～１３２５位または１４８０～１４９５位におけるその等長部分に相補的である核酸塩基配列を含み、

前記修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基配列におけるその等長部分に少なくとも９０％相補性を有し、

前記少なくとも８個の連続する核酸塩基配列が配列番号１の核酸塩基配列の５’末端から１４８０～１４９５位におけるその等長部分に相補的である核酸塩基配列を含む場合は、前記修飾オリゴヌクレオチドは配列番号１の核酸塩基の５’末端から１４８０位の塩基の相補塩基を３’末端に有する核酸塩基配列からなる、

修飾オリゴヌクレオチド。

[請求項2] 前記修飾オリゴヌクレオチドのうち１つ以上の修飾ヌクレオチドが修飾糖を含む、請求項１に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

[請求項3] 前記修飾糖が、二環式糖、２’－Ｏ－メトキシエチルで修飾された糖、および２’－Ｏ－メチルで修飾された糖からなる群から選択される、請求項２に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

[請求項4] 前記二環式糖が、ＬＮＡ、ＧｕＮＡ、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］、ＡＬＮＡ［ｍＵ］、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］、ＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］、およびＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］からなる群から選択される、請求項３に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

[請求項5] １２～３０残基からなる修飾オリゴヌクレオチドであって、

少なくとも８個の連続する核酸塩基配列であって、配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基配列の５’末端から１４７２～１４９５位におけるその等長部分に相補的である核酸塩基配列を含み、

前記修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基配列におけるその等長部分に少なくとも９０％相補性を有し、

前記修飾オリゴヌクレオチドがＧｕＮＡ、ＡＬＮＡ［Ｍｓ］、ＡＬＮＡ［ｍＵ］、ＡＬＮＡ［ｉｐＵ］、ＡＬＮＡ［Ｏｘｚ］、およびＡＬＮＡ［Ｔｒｚ］から選択される修飾糖を含むヌクレオシドを少なくとも１つ含む、

修飾オリゴヌクレオチド。

[請求項6] 前記修飾オリゴヌクレオチドがさらに、２’－Ｏ－メトキシエチルで修飾された糖、および／または２’－Ｏ－メチルで修飾された糖を含む、請求項５に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

[請求項7] 前記修飾オリゴヌクレオチドのうち少なくとも１つの修飾ヌクレオチドが修飾核酸塩基を含む、請求項１～６のいずれか１項に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

[請求項8] 前記修飾核酸塩基が５－メチルシトシンである、請求項７に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

[請求項9] 少なくとも１つのヌクレオシド間結合が修飾ヌクレオシド間結合である、請求項１～８のいずれか１項に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

[請求項10] 前記修飾ヌクレオシド間結合が、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、請求項９に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

[請求項11] 前記修飾オリゴヌクレオチドが、

１）ギャップセグメントと、

２）５’ウイングセグメントと、

３）３’ウイングセグメント、を含み、

前記ギャップセグメントが、前記５’ウイングセグメントと前記３’ウイングセグメントとの間に位置付けられ、

前記５’ウイングセグメントと３’ウイングセグメントのヌクレオ

シドのいずれもが、少なくとも１つの修飾糖を含み、

前記ギャップセグメントのヌクレオシドは、修飾糖を含まないヌクレオシドのみであるか、または、修飾糖を含む１または２個のヌクレオシドを含み、それ以外は修飾糖を含まないヌクレオシドである、

請求項１～１０のいずれか１項に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

[請求項12] 前記修飾オリゴヌクレオチドが、

配列番号１のＤＵＸ４の成熟ｍＲＮＡの核酸塩基配列の

５’末端から１２８～１４３位の核酸塩基配列、

５’末端から２３２～２４７位の核酸塩基配列、

５’末端から２３３～２４８位の核酸塩基配列、

５’末端から１３０９～１３２３位の核酸塩基配列、または

５’末端から１４８０～１４９５位の核酸塩基配列、

に相補的な核酸塩基配列からなる、請求項１～１１のいずれか１項に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

[請求項13] 前記修飾オリゴヌクレオチドが、

gtggcgatgc ccgggt（配列番号７５）、

gagattcccg cnggtg（配列番号７８：nは５－メチルシトシンを示す）、

ngagattcccgccggt（配列番号２：nは５－メチルシトシンを示す）、

gnagttctccgcggt（配列番号３：nは５－メチルシトシンを示す）、または

gnntagacagcgtngg（配列番号４：nは５－メチルシトシンを示す）

の塩基配列からなる、請求項１～１２のいずれか１項に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

[請求項14] 下式：

GlsMlsMlsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMlsGlsGl；

で示される請求項１３に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

式中、

各核酸塩基が下記記号：

Ａ＝アデニン、Ｔ＝チミン、Ｇ＝グアニン、Ｃ＝シトシン、Ｍ＝５－メチルシトシン、

に従って示され；

各糖部分が下記記号：

Ｉ＝ＬＮＡ、ｄ＝２’－デオキシリボース、

に従って示され；

各ヌクレオシド間結合が下記記号：

ｓ＝ホスホロチオエートに従って示される。

[請求項15] 下式：

GmsMmsMmsTdsAdsGdsAdsCdsAdsGdsCdsGdsTdsMmsGmsGm；

で示される請求項１３に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

式中、

各核酸塩基が下記記号：

Ａ＝アデニン、Ｔ＝チミン、Ｇ＝グアニン、Ｃ＝シトシン、Ｍ＝５－メチルシトシン、

に従って示され；

各糖部分が下記記号：

ｍ＝ＡＬＮＡ［Ｍｓ］、ｄ＝２’－デオキシリボース、

に従って示され；

各ヌクレオシド間結合が下記記号：

ｓ＝ホスホロチオエートに従って示される。

[請求項16] 下式：

GmsMmsAmsGdsTdsTdsCdsTdsCdsCdsGdsCdsGmsGmsTm；

で示される請求項１３に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

式中、

各核酸塩基が下記記号：

Ａ＝アデニン、Ｔ＝チミン、Ｇ＝グアニン、Ｃ＝シトシン、Ｍ＝５－

メチルシトシン、に従って示され；

各糖部分が下記記号：

ｍ＝ＡＬＮＡ［Ｍｓ］、ｄ＝２’－デオキシリボース、

に従って示され；

各ヌクレオシド間結合が下記記号：

ｓ＝ホスホロチオエート

に従って示される。

[請求項17] 下式：

MlsGlsAlsGdsAdsTdsTdsCdsCdsCdsGdsCdsCdsGlsGlsTl；

で示される請求項１３に記載の修飾オリゴヌクレオチド。

式中、

各核酸塩基が下記記号：

Ａ＝アデニン、Ｔ＝チミン、Ｇ＝グアニン、Ｃ＝シトシン、Ｍ＝５－メチルシトシン、

に従って示され；

各糖部分が下記記号：

Ｌ＝ＬＮＡ、ｄ＝２’－デオキシリボース、

に従って示され；

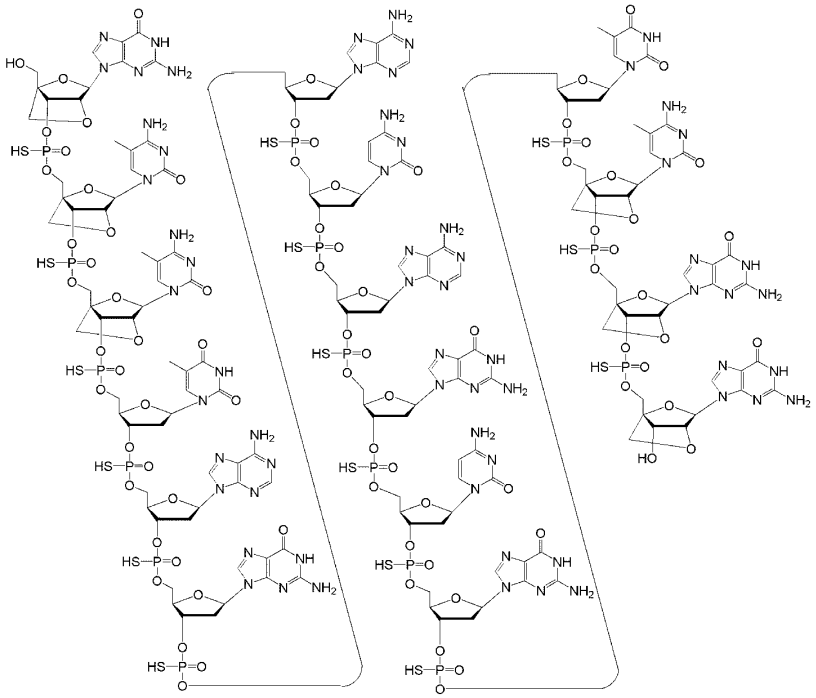
各ヌクレオシド間結合が下記記号：

ｓ＝ホスホロチオエート

に従って示される。

[請求項18] 下式：

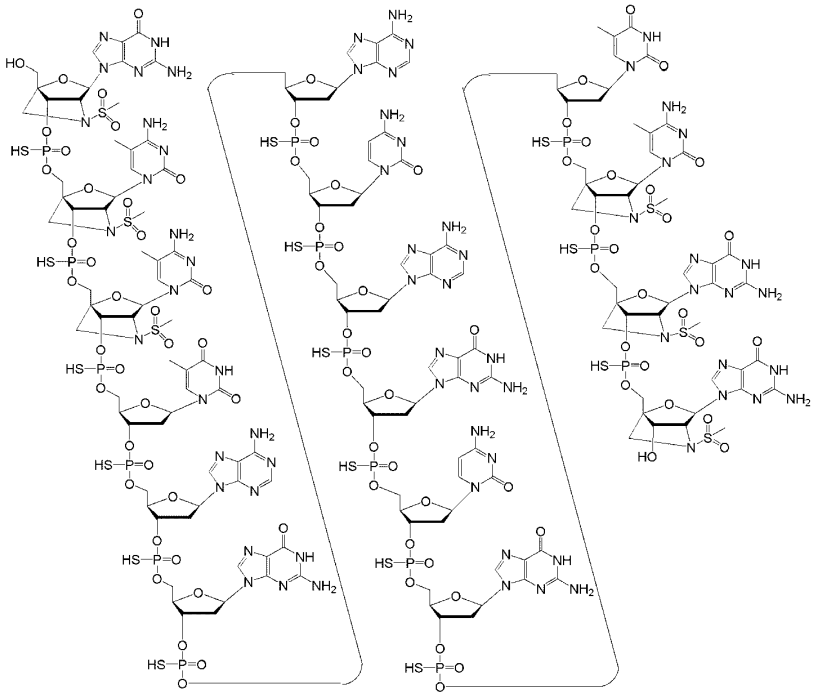
[化1]



によって示される、請求項１４に記載の修飾オリゴヌクレオチドまたはその塩。

[請求項19] 下式：

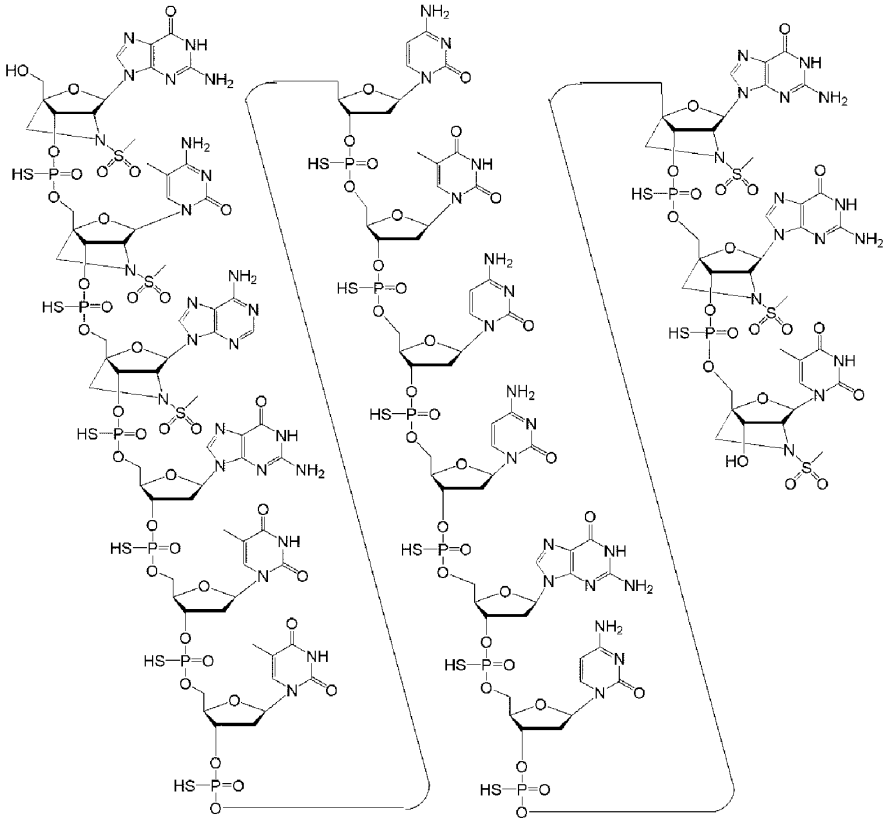
[化2]



によって示される、請求項１５に記載の修飾オリゴヌクレオチドまたはその塩。

[請求項20] 下式：

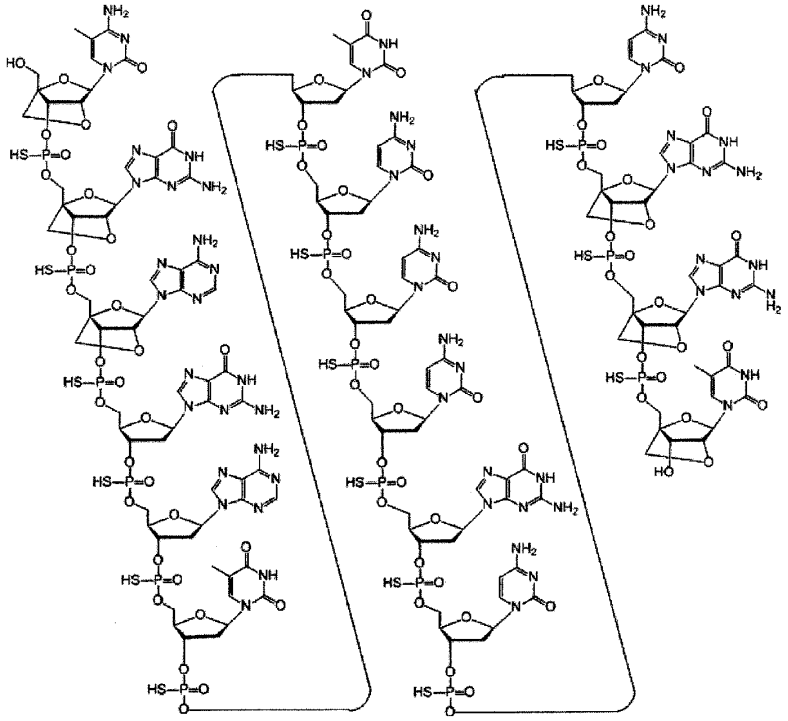
[化3]



によって示される、請求項１６に記載の修飾オリゴヌクレオチドまたはその塩。

[請求項21] 下式：

[化4]



によって示される、請求項１７に記載の修飾オリゴヌクレオチドまたはその塩。

[請求項22] 請求項１～２１のいずれか１項に記載の修飾オリゴヌクレオチドまたはその医薬的に許容可能な塩、および薬学的に許容可能な担体を含む医薬組成物。

[請求項23] ＤＵＸ４関連疾患の治療、予防、またはその進行の遅延化のための、請求項２２に記載の医薬組成物。

[請求項24] 前記ＤＵＸ４関連疾患が顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーである、請求項２３に記載の医薬組成物。

[請求項25] 請求項１～２１のいずれか１項に記載の修飾オリゴヌクレオチドの有効量を、それを必要とする被験者に投与することを特徴とする、被験者におけるＤＵＸ４関連疾患の治療、予防またはその進行の遅延化のための方法。

[請求項26] ＤＵＸ４関連疾患の治療、予防またはその進行の遅延化のための医

薬の製造における、請求項１～２１のいずれか１項に記載の修飾オリゴヌクレオチドの使用。

[請求項27] ＤＵＸ４関連疾患の治療、予防またはその進行の遅延化のための、請求項１～２１のいずれか１項に記載の修飾オリゴヌクレオチドの使用。