

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2018-511302

(P2018-511302A)

(43) 公表日 平成30年4月26日(2018.4.26)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C12Q 1/68 (2018.01)	C12Q 1/68 A	2G045
C12N 15/09 (2006.01)	C12N 15/00 A	4B063
C12Q 1/06 (2006.01)	C12Q 1/06	4C084
A61K 31/711 (2006.01)	A61K 31/711	4C086
A61K 48/00 (2006.01)	A61K 48/00	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 70 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-541034 (P2017-541034)
 (86) (22) 出願日 平成28年2月4日 (2016.2.4)
 (85) 翻訳文提出日 平成29年9月28日 (2017.9.28)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2016/016652
 (87) 国際公開番号 W02016/127000
 (87) 国際公開日 平成28年8月11日 (2016.8.11)
 (31) 優先権主張番号 62/112,058
 (32) 優先日 平成27年2月4日 (2015.2.4)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 62/156,684
 (32) 優先日 平成27年5月4日 (2015.5.4)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 62/279,610
 (32) 優先日 平成28年1月15日 (2016.1.15)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

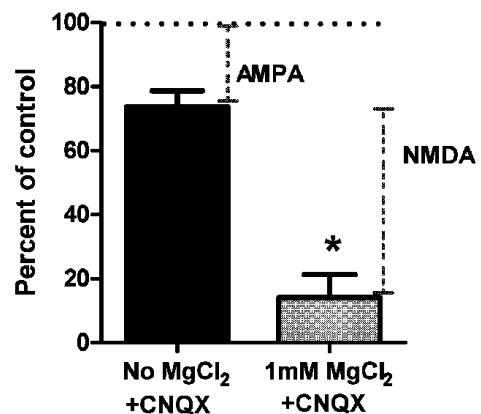
(71) 出願人 391015708
 ブリストル・マイヤーズ スクイブ カンパニー
 BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY
 アメリカ合衆国08543ニュージャージー州 プリンストン、ルート206アンド・プロビンス・ライン・ロード
 (71) 出願人 504013269
 ロシュ・イノベーション・センター・コペンハーゲン・アクティーゼルスカブ
 Roche Innovation Center Copenhagen A/S
 デンマーク、デーコー2970ヘアホルム、フレムティズヴァイ3番
 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 治療用分子を選択する方法

(57) 【要約】

本発明は、投与に安全である分子を同定するためにカルシウム振動アッセイおよび/または配列スコア計算を使用する方法を提供する。本発明はまたカルシウム振動アッセイ、配列スコア法、インビボ耐性アッセイまたはこれらの任意の組み合わせを使用して、耐性のインビボ神経毒性を有する分子を選択または同定する方法も含む。

Figure 1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

分子と接触している神経細胞におけるインビトロカルシウム振動を測定することを含む、該分子のインビボ急性神経毒性を試験または決定する方法。

【請求項 2】

分子と接触している神経細胞におけるカルシウム振動が媒体対照細胞におけるカルシウム振動と比較して約 70% 以上、約 75% 以上、約 80% 以上、約 85% 以上、約 90% 以上、約 95% 以上、約 96% 以上、約 97% 以上、約 98% 以上、約 99% 以上、約 100% 以上、約 120% 以上、約 140% 以上、約 160% 以上、約 180% 以上、約 200% 以上、約 220% 以上、約 240% 以上または約 250% 以上である、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 3】

分子と接触している神経細胞におけるインビトロカルシウム振動の測定を含む、耐受性のインビボ急性神経毒性を有する分子を選択または同定する方法であって、該分子と接触している神経細胞が媒体対照細胞と同等またはそれより高いレベルのカルシウム振動を示す、方法。

【請求項 4】

分子と接触している神経細胞におけるカルシウム振動が媒体対照細胞におけるカルシウム振動と比較して約 70% 以上、約 75% 以上、約 80% 以上、約 85% 以上、約 90% 以上、約 95% 以上、約 96% 以上、約 97% 以上、約 98% 以上、約 99% 以上、約 100% 以上、約 120% 以上、約 140% 以上、約 160% 以上、約 180% 以上、約 200% 以上、約 220% 以上、約 240% 以上または約 250% 以上である、請求項 3 に記載の方法。

20

【請求項 5】

分子が小分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、ペプチドまたはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の方法。

【請求項 6】

カルシウム振動が AMPA 受容体依存性カルシウム振動である、請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の方法。

【請求項 7】

カルシウム振動が Mg^{2+} イオンの存在下測定される、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の方法。

30

【請求項 8】

分子がポリヌクレオチドを含み、配列スコアの計算をさらに含み、ここで、配列スコアを式 (I)

【数 1】

$$\frac{(\text{ポリヌクレオチド中の C ヌクレオチドまたはそのアナログの数} - \text{ポリヌクレオチド中の G ヌクレオチドまたはそのアナログの数}) / \text{ポリヌクレオチドの総ヌクレオチド長(数)}}{(I)}$$

40

により計算する、請求項 1 または 3 に記載の方法。

【請求項 9】

ポリヌクレオチドを含む分子のインビボ急性神経毒性を決定する方法であって、配列スコアの計算を含み、ここで、配列スコアを式 (I)

【数 2】

$$\frac{(\text{ポリヌクレオチド中の C ヌクレオチドまたはそのアナログの数} - \text{ポリヌクレオチド中の G ヌクレオチドまたはそのアナログの数}) / \text{ポリヌクレオチドの総ヌクレオチド長(数)}}{(I)}$$

により計算する、方法。

50

【請求項 10】

式(I)

【数 3】

$$\frac{(\text{ポリヌクレオチド中のCヌクレオチドまたはそのアナログの数} - \text{ポリヌクレオチド中のGヌクレオチドまたはそのアナログの数}) / \text{ポリヌクレオチドの総ヌクレオチド長(数)}}{(I)}$$

を使用して配列スコアを計算することを含む、耐受性のインビボ急性神経毒性を有するポリヌクレオチドを含む分子を選択する方法であって、ここで、ポリヌクレオチドが0.2以上の配列スコアを有する、方法。

10

【請求項 11】

分子のインビボ耐受性の測定をさらに含む、請求項1～10のいずれかに記載の方法。

【請求項 12】

耐受性カテゴリーが1)活動亢進；2)活動低下および覚醒；3)運動機能障害および/または失調；4)体位および呼吸異常；5)振戦および/または痙攣およびこれらの2以上の組み合わせからなる群から選択される、請求項11に記載の方法。

【請求項 13】

分子が0～8の合計インビボ耐受性スコアを示す、請求項12に記載の方法。

【請求項 14】

分子の行動試験スコアの測定をさらに含む、請求項1～13のいずれかに記載の方法。

20

【請求項 15】

行動試験が短期記憶試験、空間学習および記憶試験、歩行分析試験またはこれらの任意の組み合わせである、請求項14に記載の方法。

【請求項 16】

神経細胞の培養における分子のチューブリン強度の測定をさらに含む、請求項1～15のいずれかに記載の方法。

【請求項 17】

分子が神経細胞の培養におけるチューブリン強度を約25%未満、約20%未満、約15%未満、約10%未満、約5%未満または約1%未満低減させる、請求項16に記載の方法。

30

【請求項 18】

分子を実験動物に投与したとき、20%を超える動物が生存する、請求項1～17のいずれかに記載の方法。

【請求項 19】

請求項1～18のいずれかに記載の方法により選択された分子。

【請求項 20】

請求項19に記載の分子を投与することを含む、疾患または状態を処置する方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

40

先の出願の参照

本出願は、米国仮出願番号62/112,058号(2015年2月4日出願)、米国仮出願番号62/156,684号(2015年5月4日出願)および米国仮出願番号62/279,610号(2016年1月15日出願)の利益を請求するPCT出願であり、これらの全ては、引用によりその全体をここに包含させる。

【0002】

EFS-WEBにより電子的に提供した配列表に関する言及

本出願において提供される電子的に提供した配列表(名称:3338.035PC03 SL.txt、サイズ:339,610バイト;および作成日:2016年2月4日)を、引用によりその全体をここに包含させる。

50

【 0 0 0 3 】

発明の分野

本発明は、毒性副作用が低減した治療用分子を選択する方法に関する。本方法は、インビトロまたはインシリコで、実験動物への投与前に分子をスクリーニングするために使用でき、または本方法は、インビボで実験動物に使用できる。

【背景技術】

【 0 0 0 4 】

背景

特異的に標的化された治療剤の分野で、ある治療用分子は、タンパク質との非特異的相互作用、望まない免疫応答刺激または組織への蓄積によるような、毒性副作用を引き起こす。対象への治療用分子の投与時の重要な懸念の一つは、分子の潜在的神経毒性である。神経毒性分子への暴露は、脳および末梢神経系の損傷をもたらし、長期的生理学的問題の原因となり得る。したがって、投与したとき、治療用分子が所望の疾患または障害の処置に有効であるだけでなく、許容される毒性、例えば神経毒性も有することが重要である。

10

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 0 5 】

最も有効な治療用分子の決定は、通常細胞における因子を標的とするように設計された多数の分子の合成と、その多数の分子の活性および毒性についての試験を含む。動物試験を毒性の決定のために実施できるが、試験する多数の分子の毒性のために、多数の動物が死亡する動物試験を実施することは、倫理的にも、経済的にも望ましくない。それゆえに、動物試験を要することなく、治療用分子の神経毒性のような毒性を決定する改善された方法が必要である。

20

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 6 】

発明の概要

本発明は、分子と接触している神経細胞におけるインビトロ細胞内遊離カルシウム濃度の振動(“カルシウム振動”)を測定することを含む、分子のインビボ急性神経毒性を試験または決定する方法を提供する。

【 0 0 0 7 】

本発明はまた、インビトロで分子と接触している神経細胞におけるインビトロカルシウム振動を測定することを含む、耐容性のインビボ急性神経毒性を有する分子を選択する方法も提供し、ここで、分子は、対照と同等なカルシウム振動レベルを示す。

30

【 0 0 0 8 】

カルシウム振動の測定を含む、本発明の上記方法は、さらに、分子、例えば、ヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドの配列スコアを計算することを含んでよく、ここで、配列スコアは、式(I)

【数1】

(ヌクレオチド配列中のCヌクレオチドまたはそのアナログの数-ヌクレオチド配列中のGヌクレオチドまたはそのアナログの数)/ヌクレオチド配列の総ヌクレオチド長

40

(I)

により計算される。

【 0 0 0 9 】

本発明はまたヌクレオチド配列を含む分子のインビボ急性神経毒性を決定する方法も提供し、方法は配列スコアの計算を含み、ここで、配列スコアは、式(I)

【数2】

(ヌクレオチド配列中のCヌクレオチドまたはそのアナログの数-ヌクレオチド配列中のGヌクレオチドまたはそのアナログの数)/ヌクレオチド配列の総ヌクレオチド長
(I)

により計算される。

【0010】

本発明はまた式(I)

【数3】

(ヌクレオチド配列中のCヌクレオチドまたはそのアナログの数-ヌクレオチド配列中のGヌクレオチドまたはそのアナログの数)/ヌクレオチド配列の総ヌクレオチド長
(I)

10

を使用して配列スコアを計算することを含む、耐受性のインビボ急性神経毒性を有するヌクレオチド配列を含む分子を選択する方法を提供し、ここで、ヌクレオチド配列は0.2以上の配列スコアを有する。

【0011】

他の態様において、本発明は、インビボ耐受性の測定を含む、耐受性のインビボ急性神経毒性を有する分子を選択する方法を提供する。本発明は、インビボ耐受性が5耐受性カテゴリの一つに段階分けされる、方法を提供する。本発明はまた、耐受性カテゴリが
1)活動亢進; 2)活動低下および覚醒; 3)運動機能障害および/または失調; 4)体位および呼吸異常; ならびに5)振戦および/または痙攣であり得るものも提供する。ある態様において、インビボ耐受性は、分子を哺乳動物脳に注射し、哺乳動物の耐受性を、0~20のスケールの耐受性カテゴリに段階分けすることにより測定できる。

20

【0012】

本発明の上記方法は、さらに、神経細胞の培養物におけるチューブリン強度、標的タンパク質の発現または分子の行動遂行の測定を含み得る。

【0013】

本発明はまた、疾患または状態の処置を必要とする対象に、上記方法により試験された分子を投与することを含む、方法を提供する。

30

【0014】

ある態様において、分子は、タンパク質、ペプチド、小分子、ポリヌクレオチド(例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド)またはこれらの任意の組み合わせを含む。

【0015】

態様

E1. 分子と接触している神経細胞におけるインビトロカルシウム振動を測定することを含む、分子のインビボ急性神経毒性を試験または決定する方法。

【0016】

E2. 分子のカルシウム振動を、分子に曝されていない神経細胞(“対照細胞”)におけるカルシウム振動と比較する、態様1に記載の方法。

40

【0017】

E3. 対照細胞が媒体対照細胞である、態様2に記載の方法。

【0018】

E4. 分子と接触している神経細胞におけるカルシウム振動が、媒体対照細胞におけるカルシウム振動と比較して約70%以上、約75%以上、約80%以上、約85%以上、約90%以上、約95%以上、約96%以上、約97%以上、約98%以上、約99%以上、約100%以上、約120%以上、約140%以上、約160%以上、約180%以上、約200%以上、約220%以上、約240%以上または約250%以上である、態様3に記載の方法。

【0019】

50

E 5. 分子と接触している神経細胞におけるインビトロカルシウム振動の測定を含む、耐容性のインビボ急性神経毒性を有する分子を選択または同定する方法であって、該分子と接触している神経細胞が媒体対照細胞と同等またはそれより高いレベルのカルシウム振動を示す、方法。

【0020】

E 6. 分子と接触している神経細胞におけるカルシウム振動が、媒体対照細胞におけるカルシウム振動と比較して約70%以上、約75%以上、約80%以上、約85%以上、約90%以上、約95%以上、約96%以上、約97%以上、約98%以上、約99%以上、約100%以上、約120%以上、約140%以上、約160%以上、約180%以上、約200%以上、約220%以上、約240%以上または約250%以上である、態様5に記載の方法。

10

【0021】

E 7. 神経細胞が哺乳動物初代皮質ニューロンから取得される、態様1~6のいずれかに記載の方法。

【0022】

E 8. 分子が小分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、ペプチドまたはこれらの任意の組み合わせを含む、態様1~7のいずれかに記載の方法。

【0023】

E 9. タンパク質が抗体またはその抗原結合フラグメント、融合タンパク質、サイトカイン、細胞表面受容体、ホルモン、増殖因子またはこれらの任意の組み合わせを含む、態様8に記載の方法。

20

【0024】

E 10. カルシウム振動がAMPA受容体依存性カルシウム振動である、態様1~9のいずれかに記載の方法。

【0025】

E 11. カルシウム振動が Mg^{2+} イオンの存在下測定される、態様1~10のいずれかに記載の方法。

【0026】

E 12. Mg^{2+} イオンの濃度が少なくとも約0.5mM、少なくとも約0.6mM、少なくとも約0.7mM、少なくとも約0.8mM、少なくとも約0.9mM、少なくとも約1mM、少なくとも約1.5mM、少なくとも約2.0mM、少なくとも約2.5mM、少なくとも約3.0mM、少なくとも約4mM、少なくとも約5mMまたは少なくとも約10mMである、態様11に記載の方法。

30

【0027】

E 13. カルシウム振動がカルシウム色素の蛍光の測定により決定される、態様1~12のいずれかに記載の方法。

【0028】

E 14. さらに疾患または状態の処置を必要とする対象に該分子を投与することを含む、態様1~13のいずれかに記載の方法。

【0029】

E 15. 疾患または状態がウイルス感染、神経障害(例えば、アルツハイマー病、進行性核上性麻痺、ダウン症候群、パンチドランカー(慢性外傷性脳症および他の外傷性脳傷害)、17番染色体に連鎖するパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症(FTDP-17)、リテイコ・ボディグ病(グアム-パーキンソン痴呆複合)、神経原線維変化優位型認知症、神経節膠腫、神経節細胞腫、髄膜血管腫症、亜急性硬化性全脳炎、鉛脳症、片側巨脳症、結節性硬化症、ハラールホルデン・スパッツ病、ピック病、大脳皮質基底核神経節変性、嗜銀顆粒、大脳皮質基底核変性症、リポフスチン沈着症、前頭側頭型認知症、核上性麻痺および前頭側頭葉変性、脳ネットワーク機能障害の疾患(例えば、てんかんおよびうつ病の全ての形態)、脊髄障害、末梢ニューロパチー、頭側神経障害(例えば、三叉神経痛)、自律神経系障害(例えば、自律神経障害または多系統萎縮症)、中枢および末梢神経系の運動

40

50

障害(例えば、パーキンソン病、本態性振戦、筋萎縮性側索硬化症、トゥレット症候群、多発性硬化症または種々のタイプの末梢ニューロパチー)、睡眠障害(例えば、ナルコレプシー)、片頭痛または他のタイプの頭痛(例えば、群発頭痛および緊張型頭痛)、腰および頸部痛、中枢ニューロパチー、神経精神疾病、注意欠損活動亢進障害、自閉症、ハンチントン病、レット症候群、アンジェルマン症候群、器質精神病、脳または脊髄の感染髄膜炎を含む)またはプリオン病)、貧血、癌、白血病、炎症性状態または自己免疫性疾患(例えば関節炎、乾癬、エリテマトーデス、多発性硬化症)、細菌感染、前頭側頭型認知症 - タウ(F T D - タウ)、17番染色体に連鎖するパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症(F T D P - 17)、大脳皮質基底核変性症(C B D)、外傷性脳傷害、慢性外傷性脳症、H I V 関連神経認知障害、嗜銀顆粒、ダウン症候群 - アルツハイマー病、健忘性軽度認知機能障害 - アルツハイマー病、パーキンソン病認知症、ハラールホルデン・スパッツ病(パントテン酸キナーゼ関連神経変性)、ニーマン・ピック病C型、筋緊張性ジストロフィー、筋萎縮性側索硬化症、片側巨脳症、結節性硬化症複合、限局性皮質異形成2b型、神経節細胞腫瘍、ドラベ症候群(乳児重症ミオクロニーてんかん)、側頭葉てんかん、大田原症候群(サブプレッション・バーストを伴う早期乳児てんかん性脳症)、ラフォラ体病、全般てんかん熱性痙攣、小児攣縮(ウェスト症候群)、レノックス・ガスター症候群、アンジェルマン症候群、レット症候群、ランドウ・クレフナー症候群、限局性発作、単純限局性発作(意識消失無し)、限局性認知障害発作(意識障害)、全般性強直間代性(G T C)痙攣に進展する限局性発作、全般性発作(皮質下構造が関与する両側性発射を伴う痙攣性または非痙攣性)、欠神発作、ミオクロヌス性発作、間代性発作、緊張性発作、緊張性 - 間代性発作およびアトニー性発作、自閉症障害、自閉症スペクトラム障害、アスペルガー障害、広汎性発達障害およびこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、態様14に記載の方法。

10

20

30

40

50

【0030】

E 16. 分子がポリヌクレオチドを含む、態様1~15のいずれかに記載の方法。

【0031】

E 17. 配列スコアの計算をさらに含み、ここで、配列スコアを式(I)

【数4】

$$(ポリヌクレオチド中のCヌクレオチドまたはそのアナログの数 - ポリヌクレオチド中のGヌクレオチドまたはそのアナログの数) / ポリヌクレオチドの総ヌクレオチド長(数)$$

(I)

により計算する、態様16に記載の方法。

【0032】

E 18. ポリヌクレオチドを含む分子のインピボ急性神経毒性を決定する方法であって、方法は配列スコアの計算を含み、ここで、配列スコアを式(I)

【数5】

$$(ポリヌクレオチド中のCヌクレオチドまたはそのアナログの数 - ポリヌクレオチド中のGヌクレオチドまたはそのアナログの数) / ポリヌクレオチドの総ヌクレオチド長(数)$$

(I)

により計算する、方法。

【0033】

E 19. 式(I)

【数6】

$$(ポリヌクレオチド中のCヌクレオチドまたはそのアナログの数 - ポリヌクレオチド中のGヌクレオチドまたはそのアナログの数) / ポリヌクレオチドの総ヌクレオチド長(数)$$

(I)

を使用して配列スコアを計算することを含む、耐容性のインピボ急性神経毒性を有するポリヌクレオチドを含む分子を選択する方法であって、ここで、ポリヌクレオチドが0.2以上の配列スコアを有する、方法。

【0034】

E 2 0 . 配列スコアが 0 . 2 以上、 0 . 2 5 以上、 0 . 3 以上、 0 . 3 5 以上、 0 . 4 以上、 0 . 4 5 以上、 0 . 5 以上、 0 . 5 5 以上、 0 . 6 以上、 0 . 6 5 以上、 0 . 7 以上、 0 . 7 5 以上、 0 . 8 以上、 0 . 8 5 以上、 0 . 9 以上、 0 . 9 5 以上、 1 . 0 以上、 1 . 5 以上、 2 . 0 以上、 3 . 0 以上または 4 . 0 以上である、 態様 1 7 ~ 1 9 のいずれかに記載の方法。

【 0 0 3 5 】

E 2 1 . ポリヌクレオチドが D N A または R N A を含む、 態様 1 6 ~ 2 0 のいずれかに記載の方法。

【 0 0 3 6 】

E 2 2 . ポリヌクレオチドが一本鎖である、 態様 1 6 ~ 2 1 のいずれかに記載の方法。

【 0 0 3 7 】

E 2 3 . ポリヌクレオチドが約 1 0 ~ 約 5 0 ヌクレオチド長のアンチセンスオリゴヌクレオチド(すなわち、オリゴマー)である、 態様 1 6 ~ 2 2 のいずれかに記載の方法。

【 0 0 3 8 】

E 2 4 . アンチセンスオリゴヌクレオチドが標的タンパク質の発現を調節する、 態様 2 3 に記載の方法。

【 0 0 3 9 】

E 2 5 . アンチセンスオリゴヌクレオチドが標的タンパク質の m R N A を標的とする、 態様 2 3 に記載の方法。

【 0 0 4 0 】

E 2 6 . m R N A が前 m R N A または成熟 m R N A 、 態様 2 5 に記載の方法。

【 0 0 4 1 】

E 2 7 . m R N A が細胞で発現される、 態様 2 5 または 2 6 に記載の方法。

【 0 0 4 2 】

E 2 8 . m R N A が神経細胞で発現される、 態様 2 7 に記載の方法。

【 0 0 4 3 】

E 2 9 . アンチセンスオリゴヌクレオチドが神経細胞の培養物における標的遺伝子の m R N A 発現を調節する、 態様 2 3 ~ 2 8 のいずれかに記載の方法。

【 0 0 4 4 】

E 3 0 . アンチセンスオリゴヌクレオチドが神経細胞の培養物における標的ヌクレオチドによりコードされるタンパク質発現を調節する、 態様 2 3 ~ 2 9 のいずれかに記載の方法。

【 0 0 4 5 】

E 3 1 . アンチセンスオリゴヌクレオチドが標的遺伝子の m R N A または前 m R N A と相補的である、 態様 2 3 ~ 3 0 のいずれかに記載の方法。

【 0 0 4 6 】

E 3 2 . 分子のインビトロ標的タンパク質の発現の低減をさらに測定する、 態様 1 ~ 3 1 のいずれかに記載の方法。

【 0 0 4 7 】

E 3 3 . 分子のインビボ耐容性の測定をさらに含む、 態様 1 ~ 3 2 のいずれかに記載の方法。

【 0 0 4 8 】

E 3 4 . インビボ耐容性を哺乳動物に分子を投与し、哺乳動物の耐容性を耐容性カテゴリーに段階分けすることにより測定する、 態様 3 3 に記載の方法。

【 0 0 4 9 】

E 3 5 . 分子を哺乳動物の脳に投与する、 態様 3 3 に記載の方法。

【 0 0 5 0 】

E 3 6 . 分子を哺乳動物に投与し、哺乳動物の耐容性を耐容性カテゴリーに段階分けすることを含む、該分子のインビボ耐容性を試験または決定する方法。

【 0 0 5 1 】

E 3 7 . 耐容性カテゴリーが少なくとも 1 、 少なくとも 2 、 少なくとも 3 、 少なくとも 4

10

20

30

40

50

または少なくとも5の耐容性カテゴリーを含む、態様34～36のいずれかに記載の方法。

【0052】

E38. 耐容性カテゴリーが1)活動亢進；2)活動低下および覚醒；3)運動機能障害および/または失調；4)体位および呼吸異常；5)振戦および/または痙攣およびこれらの2以上の組み合わせからなる群から選択される、態様37に記載の方法。

【0053】

E39. 分子が耐容性カテゴリーの各々で0～4のインビボ耐容性スコアを示す、態様38に記載の方法。

【0054】

E40. 分子が0～8の合計インビボ耐容性スコアを示す、態様39に記載の方法。

【0055】

E41. 分子が0～6、0～5、0～4、0～3、0～2または0～1の合計インビボ耐容性スコアを示す、態様39または40に記載の方法。

【0056】

E42. 分子の行動試験スコアの測定をさらに含む、態様1～41のいずれかに記載の方法。

【0057】

E43. 行動試験スコアを、分子を哺乳動物に投与し、哺乳動物の行動遂行を段階分けすることにより測定する、態様42に記載の方法。

【0058】

E44. 行動試験が短期記憶試験、空間学習および記憶試験、歩行分析試験またはこれらの任意の組み合わせである、態様41～43のいずれかに記載の方法。

【0059】

E45. 神経細胞の培養物における分子のチューブリン強度の測定をさらに含む、態様1～44のいずれかに記載の方法。

【0060】

E46. 分子のチューブリン強度を、分子に曝されていない神経細胞におけるチューブリン強度と比較する、態様45に記載の方法。

【0061】

E47. 分子が神経細胞の培養物におけるチューブリン強度を約25%未満、約20%未満、約15%未満、約10%未満、約5%未満または約1%未満低減させる、態様46に記載の方法。

【0062】

E48. 疾患または状態の処置を必要とする対象に分子を投与することをさらに含む、態様1～47のいずれかに記載の方法。

【0063】

E49. 疾患または状態がウイルス感染、神経障害(例えば、アルツハイマー病、進行性核上性麻痺、ダウン症候群、パンチドランカー(慢性外傷性脳症および他の外傷性脳傷害)、17番染色体に連鎖するパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症(FTDP-17)、ハンチントン病、レット症候群、アンジェルマン症候群、リティコ・ボディグ病(グアム・パーキンソン痴呆複合)、神経原線維変化優位型認知症、神経節膠腫、神経節細胞腫、髄膜血管腫症、亜急性硬化性全脳炎、鉛脳症、片側巨脳症、結節性硬化症、ハラールデン・スパッツ病、ピック病、大脳皮質基底核神経節変性、嗜銀顆粒、大脳皮質基底核変性症、リポフスチン沈着症、前頭側頭型認知症、核上性麻痺および前頭側頭葉変性、脳ネットワーク機能障害の疾患(例えば、てんかんおよびうつ病の全ての形態)、脊髄障害、末梢ニューロパチー、頭側神経障害(例えば、三叉神経痛)、自律神経系障害(例えば、自律神経障害または多系統萎縮症)、中枢および末梢神経系の運動障害(例えば、パーキンソン病、本態性振戦、筋萎縮性側索硬化症、トゥレット症候群、多発性硬化症または種々のタイプの末梢ニューロパチー)、睡眠障害(例えば、ナルコレプシー)、片頭痛または他のタイ

10

20

30

40

50

ブの頭痛(例えば、群発頭痛および緊張型頭痛)、腰および頸部痛、中枢ニューロパチー、神経精神疾病、注意欠損活動亢進障害、自閉症、ハンチントン病、器質精神病、脳または脊髄の感染髄膜炎を含む)またはプリオン病)、貧血、癌、白血病、炎症性状態または自己免疫性疾患(例えば関節炎、乾癬、エリテマトーデス、多発性硬化症)、細菌感染、前頭側頭型認知症 - タウ(F T D - タウ)、17番染色体に連鎖するパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症(F T D P - 17)、大脳皮質基底核変性症(C B D)、外傷性脳傷害、慢性外傷性脳症、H I V関連神経認知障害、嗜銀顆粒、ダウン症候群 - アルツハイマー病、健忘性軽度認知機能障害 - アルツハイマー病、パーキンソン病認知症、ハラールホルデン・スパッツ病(パントテン酸キナーゼ関連神経変性)、ニーマン・ピック病C型、筋緊張性ジストロフィー、筋萎縮性側索硬化症、片側巨脳症、結節性硬化症複合、限局性皮質異形成2 b型、神経節細胞腫瘍、ドラベ症候群(乳児重症ミオクロニーてんかん)、側頭葉てんかん、大田原症候群(サブプレッション・バーストを伴う早期乳児てんかん性脳症)、ラフォラ体病、全般てんかん熱性痙攣、小児攣縮(ウェスト症候群)、レノックス・ガスター症候群、アンジェルマン症候群、レット症候群、ランドウ・クレフナー症候群、限局性発作、単純限局性発作(意識消失無し)、限局性認知障害発作(意識障害)、全般性強直間代性(G T C)痙攣に進展する限局性発作、全般性発作(皮質下構造が関与する両側性発射を伴う痙攣性または非痙攣性)、欠神発作、ミオクローヌス性発作、間代性発作、緊張性発作、緊張性 - 間代性発作およびアトニー性発作、自閉症障害、自閉症スペクトラム障害、アスペルガー障害、広汎性発達障害およびこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、態様48に記載の方法。

10

20

【0064】

E50. 分子が疾患または状態を処置または予防する、態様49に記載の方法。

【0065】

E51. ポリヌクレオチドがアンチセンスオリゴヌクレオチドである、態様16~50のいずれかに記載の方法。

【0066】

E52. ポリヌクレオチドが少なくとも1ヌクレオチドアナログを含む、態様16~51のいずれかに記載の方法。

【0067】

E53. ポリヌクレオチドが少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9または少なくとも10ヌクレオチドアナログを含む、態様16~52のいずれかに記載の方法。

30

【0068】

E54. ヌクレオチドアナログまたはアナログがロックド核酸(LNA); 2'-O-アルキル-RNA; 2'-アミノ-DNA; 2'-フルオロ-DNA; アラビノ核酸(ANA); 2'-フルオロ-ANA、ヘキシトール核酸(HNA)、インターカレーティング核酸(INA)、拘束エチルヌクレオシド(cEt)、2'-O-メチル核酸(2'-OMe)、2'-O-メトキシエチル核酸(2'-MOE)またはこれらの任意の組み合わせである、態様52または53に記載の方法。

【0069】

E55. アンチセンスオリゴヌクレオチドがホスホジエステル結合、ホスホトリエステル結合、メチルホスホネート結合、ホスホロアミデート結合、ホスホロチオエート結合およびこれらの組み合わせから選択されるヌクレオシド間結合を含む、態様23~54のいずれかに記載の方法。

40

【0070】

E56. アンチセンスオリゴヌクレオチドがギャップマー、ブロックマー、ミックスマーまたはウィングマーである、態様23~55のいずれかに記載の方法。

【0071】

E57. 分子を実験動物に投与したとき、20%を超える動物が生存する、態様1~56のいずれかに記載の方法。

50

【 0 0 7 2 】

E 5 8 . 分子を実験動物に投与したとき、5 0 %を超える動物が生存する、態様 1 ~ 5 7 のいずれかに記載の方法。

【 0 0 7 3 】

E 5 9 . 分子を実験動物に投与したとき、8 5 %を超える動物が生存する、態様 1 ~ 5 8 のいずれかに記載の方法。

【 0 0 7 4 】

E 6 0 . 態様 1 ~ 5 9 のいずれかに記載の方法により選択された分子。

【 0 0 7 5 】

E 6 1 . 態様 6 0 に記載の分子を投与することを含む、疾患または状態を処置する方法。 10

【 0 0 7 6 】

E 6 2 . 疾患または状態が神経細胞と関連する、態様 6 1 に記載の方法。

【 0 0 7 7 】

E 6 3 . 1)分子を神経細胞の培養物に添加し、2)神経細胞におけるインビトロカルシウム振動を測定する工程を含む、該分子のインビボ急性神経毒性を試験または決定する方法。

【 0 0 7 8 】

E 6 4 . 神経細胞におけるカルシウム振動と、分子に曝されていない神経細胞(“対照細胞”)におけるカルシウム振動を比較することをさらに含む、態様 6 3 に記載の方法。

【 0 0 7 9 】

E 6 5 . 神経細胞が哺乳動物皮質ニューロンから調製される、態様 6 3 または 6 4 に記載の方法。 20

【 0 0 8 0 】

E 6 6 . カルシウム振動が A M P A 受容体依存性である、態様 6 3 ~ 6 5 のいずれかに記載の方法。

【 0 0 8 1 】

E 6 7 . カルシウム振動が Mg^{2+} イオンの存在下測定される、態様 6 3 ~ 6 6 のいずれかに記載の方法。

【 0 0 8 2 】

E 6 8 . Mg^{2+} イオンの濃度が少なくとも約 0 . 5 mM、少なくとも約 0 . 6 mM、少なくとも約 0 . 7 mM、少なくとも約 0 . 8 mM、少なくとも約 0 . 9 mM、少なくとも約 1 mM、少なくとも約 1 . 5 mM、少なくとも約 2 . 0 mM、少なくとも約 2 . 5 mM、少なくとも約 3 . 0 mM、少なくとも約 4 mM、少なくとも約 5 mMまたは少なくとも約 1 0 mMである、態様 6 7 に記載の方法。 30

【 0 0 8 3 】

E 6 9 . 分子が小分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、ペプチドまたはこれらの任意の組み合わせを含む、態様 6 3 ~ 6 8 のいずれかに記載の方法。

【 0 0 8 4 】

E 7 0 . 配列スコアを計算する工程をさらに含み、ここで、配列スコアを式 (I)

【 数 7 】

(ポリヌクレオチド中の Cヌクレオチドまたはそのアナログの数 - ポリヌクレオチド中の Gヌクレオチドまたはそのアナログの数) / ポリヌクレオチドにおける総ヌクレオチド数

$$(I)$$

により計算する、態様 6 9 に記載の方法。

【 0 0 8 5 】

E 7 1 . ヌクレオチド配列を含む分子のインビボ急性神経毒性を決定する方法であって、方法は配列スコアの計算を含み、ここで、配列スコアを式 (I) 40

【数 8】

(ヌクレオチド配列中のCヌクレオチドまたはそのアナログの数-ヌクレオチド配列中のGヌクレオチドまたはそのアナログの数)/ヌクレオチド配列における総ヌクレオチド数
(I)

により計算し、ここで、ヌクレオチド配列が 0.2 以上の配列スコアを有する、方法。

【0086】

E 7 2. 分子のインビボ耐容性の測定をさらに含む、態様 6 3 ~ 7 1 のいずれかに記載の方法。

【0087】

E 7 3. 神経細胞の培養物におけるチューブリン強度の測定をさらに含む、態様 6 3 ~ 7 2 のいずれかに記載の方法。

【0088】

E 7 4. 分子がアンチセンスオリゴヌクレオチドである、態様 6 3 ~ 7 3 のいずれかに記載の方法。

【0089】

E 7 5. 分子を実験動物に投与したとき、50%を超える動物が生存する、態様 6 3 ~ 7 4 のいずれかに記載の方法。

【0090】

E 7 6. 分子を実験動物に投与したとき、85%を超える動物が生存する、態様 6 3 ~ 7 4 のいずれかに記載の方法。

【0091】

E 7 7. 態様 6 3 ~ 7 6 に記載の方法により耐容性のインビボ急性神経毒性を有することが決定または同定されている、疾患または状態の処置に使用するための分子。

【0092】

E 7 8. 疾患または状態が神経細胞と関連する、態様 7 7 に記載の分子。

【0093】

E 7 9. 処置を必要とする対象における神経学疾患または状態の処置に使用するためのアンチセンスオリゴヌクレオチドであって、ここで、アンチセンスオリゴヌクレオチドと接触している神経細胞におけるカルシウム振動が媒体対照細胞におけるカルシウム振動と比較して約 70% 以上、約 75% 以上、約 80% 以上、約 85% 以上、約 90% 以上、約 95% 以上、約 96% 以上、約 97% 以上、約 98% 以上、約 99% 以上、約 100% 以上、約 120% 以上、約 140% 以上、約 160% 以上、約 180% 以上、約 200% 以上、約 220% 以上、約 240% 以上または約 250% 以上である、アンチセンスオリゴヌクレオチド。

【0094】

E 8 0. 0.2 以上、0.25 以上、0.3 以上、0.35 以上、0.4 以上、0.45 以上、0.5 以上、0.55 以上、0.6 以上、0.65 以上、0.7 以上、0.75 以上、0.8 以上、0.85 以上、0.9 以上、0.95 以上、1.0 以上、1.5 以上、2.0 以上、3.0 以上または 4.0 以上の配列スコアを有する、神経学疾患または状態の処置に使用するためのアンチセンスオリゴヌクレオチド。

【0095】

E 8 1. 分子のインビボ神経毒性を試験または決定する方法において、改善が、分子と接触している神経細胞におけるインビトロカルシウム振動の測定を含む。

【0096】

E 8 2. 耐容性のインビボ神経毒性を有する分子を試験または決定する方法において、改善が、該分子と接触している神経細胞におけるインビトロカルシウム振動の測定を含み、ここで、該分子と接触している神経細胞が、媒体対照細胞と同等以上のカルシウム振動レベルを示す。

【0097】

10

20

30

40

50

E 8 3. 態様 8 1 または 8 2 の方法において、改善は配列スコアの計算をさらに含み、ここで、分子がポリヌクレオチドを含み、ポリヌクレオチドの配列スコアを式 (I)

【数 9】

$$\frac{(\text{ポリヌクレオチド中の C ヌクレオチドまたはそのアナログの数} - \text{ポリヌクレオチド中の G ヌクレオチドまたはそのアナログの数}) / \text{ポリヌクレオチドにおける総ヌクレオチド数}}{(I)}$$

により計算する。

【0098】

E 8 4. ポリヌクレオチドを含む分子のインビボ急性神経毒性を決定する方法において、改善がポリヌクレオチドの配列スコアの計算を含み、ここで、配列スコアを式 (I)

【数 10】

$$\frac{(\text{ポリヌクレオチド中の C ヌクレオチドまたはそのアナログの数} - \text{ポリヌクレオチド中の G ヌクレオチドまたはそのアナログの数}) / \text{ポリヌクレオチドにおける総ヌクレオチド数}}{(I)}$$

により計算する。

【0099】

E 8 5. 耐容性のインビボ急性神経毒性を有するポリヌクレオチドを含む分子を選択する方法において、改善が式 (I)

【数 11】

$$\frac{(\text{ポリヌクレオチド中の C ヌクレオチドまたはそのアナログの数} - \text{ポリヌクレオチド中の G ヌクレオチドまたはそのアナログの数}) / \text{ポリヌクレオチドにおける総ヌクレオチド数}}{(I)}$$

を使用する配列スコアの計算を含み、ここで、ポリヌクレオチドは 0.2 以上の配列スコアを有する。

【0100】

E 8 6. 態様 8 1 ~ 8 5 のいずれか方法において、改善が、さらに分子のインビトロ標的タンパク質の発現低減の測定を含む。

【0101】

E 8 7. 態様 8 1 ~ 8 5 のいずれかの方法において、改善が分子のインビボ耐容性の測定をさらに含む。

【0102】

E 8 8. 態様 8 7 の方法において、インビボ耐容性を哺乳動物に分子を投与し、哺乳動物の耐容性を耐容性カテゴリーに段階分けすることにより測定する。

【図面の簡単な説明】

【0103】

【図 1】初代神経細胞自発的カルシウム振動を示すグラフである。初代神経細胞自発的カルシウム振動を、先に記載のとおり測定した (Murphy et al., 1992, J. Neurosci. 12:4834-4845)。 - アミノ - 3 - ヒドロキシ - 5 - メチル - 4 - イソキサゾールプロピオン酸 (AMPA) 受容体アンタゴニスト、6 - シアノ - 7 - ニトロキノキサリン - 2, 3 - ジオン (CNQX; 3 μM) の添加は、アッセイにおける総 AMPA 応答で表して、20% カルシウム振動を低減させた (AMPA と標識したバーにより示す)。カルシウム振動は、N - メチル - D - アスパルテート (NMDA) 受容体機能を 1 mM MgCl₂ で遮断したとき、さらに約 80% 低減された (NMDA と標識したバーにより示す)。

【0104】

【図 2】神経回路網活性崩壊の指標としてのアンチセンスオリゴマーによる AMPA 介在カルシウム振動の阻害を示すグラフである。NMDA または AMPA 介在自発的カルシウム振動のアンチセンスオリゴマー阻害を、1 mM MgCl₂ の存在下または非存在下に評

10

20

30

40

50

価した(いずれの場合も100%対照を表す)。25 μMアンチセンスオリゴマー(TGT g a t g c a g g a G T T)(配列番号304)(ASO-00007)添加はAMPA受容体を阻害したが、NMDA受容体介在振動は阻害しなかった。同様に挙動するASOおよび他のオリゴマーは、インビボで中枢神経系(CNS)ネットワーク活性およびインビトロで電気生理的自発的神経活性に負に作用することが示された(データは示していない)。

【0105】

【図3】配列スコア対インビボ耐容性スコアの相関解析。各オリゴマーの配列スコアを、式： $((C \text{ヌクレオチドまたはアナログの数} - G \text{ヌクレオチドの数}) / \text{オリゴマーにおけるヌクレオチド長(数)})$ に適切な数値を入れることにより計算した。インビボ耐容性スコアを、マウスへの100 μgオリゴマーの1回側脳室内(i.c.v.)投与またはラットへの900 μgオリゴマーまたは最大1500 μgの髄腔内(i.t.)投与後の観察に基づき、計算した。齧歯類を5カテゴリー下で観察した：1)活動亢進；2)活動低下および覚醒；3)運動機能障害および/または失調；4)体位および呼吸異常；および5)振戦および/または痙攣。総インビボ耐容性スコアは、5ユニットのスコアの合計である；ユニットのスコアの各々は0~4のスケールで測定する。それゆえに、インビボ耐容性の合計スコアは0~20の範囲であり得る。該式により計算した配列スコアはX軸およびインビボ耐容性スコアはY軸である。

10

【0106】

【図4】初代神経細胞における自発的カルシウム振動に対するタウ・アンチセンスオリゴヌクレオチドの影響を示す。図4は、オリゴマー名、ASO識別番号、ASO配列、配列番号、MAPT前mRNA配列における標的開始および修了位置および対照のパーセントとしてのカルシウム振動データ(下の実施例2に記載)を記載する。ミスマッチ塩基を伴うオリゴマーの例を、図4に“mm”として示す。特定のミスマッチ塩基対を太字、下線、斜体およびハイライトする。

20

【0107】

【図5】例示的アンチセンスオリゴヌクレオチドのインビボ耐容性を示す。図5は、ASO識別番号、ASO配列、配列番号、MAPT前mRNA配列における標的開始および修了位置、インビボ急性耐容性スコア(下の実施例6に記載)および投与後に残る脳MAPT mRNAのパーセント(同様に下の実施例6に記載)を記載する。

30

【0108】

【図6】例示的アンチセンスオリゴヌクレオチドによるタウ・タンパク質低減を示す。図6は、配列番号、オリゴマー名、ASO識別番号、ASO配列、MAPT前mRNA配列における標的開始および修了位置、成熟mRNA配列上の標的開始および正規化タウ/Tuj-1およびTuj-1免疫細胞化学値(下の実施例7に記載)。ミスマッチ塩基を伴うオリゴマーの例を、図7で“mm”として示す。特定のミスマッチ塩基対を太字、下線、斜体およびハイライトする。

【発明を実施するための形態】

【0109】

発明の詳細な記載

I. 定義

単数表現で記載するものは、1以上のそのものを意味することを注意すべきである；例えば、“分子”は、1以上の分子を表すと理解される。したがって、単数表現、“1以上”および“少なくとも1”は、ここでは相互交換可能に使用できる。

40

【0110】

さらに、ここで使用する“および/または”は、2つの特定の特性または要素の各々の、他方を伴うまたは伴わない特定の開示として解釈すべきである。それゆえに、ここでの“Aおよび/またはB”における表現において使用する用語“および/または”は、“AおよびB”、“AまたはB”、“A”(単独)および“B”(単独)を含む。同様に、“A、Bおよび/またはC”における表現において使用する用語“および/または”は、次の面のいずれかを包含することを意図する：A、BおよびC；A、BまたはC；AまたはC；

50

AまたはB；BまたはC；AおよびC；AおよびB；BおよびC；A(単独)；B(単独)；およびC(単独)。

【0111】

本明細書においてある面が用語“含む”を用いて記載されているとき、“からなる”および/または“から本質的になる”の用語で記載されている、それ以外類似する面も提供されることは理解されるべきである。

【0112】

特に断らない限り、ここで使用する全ての技術的および科学的用語は、本発明が関与する分野の当業者により共通して理解されるのと同じ意味を有する。例えば、Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; およびOxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Pressは、当業者に本明細書において使用する用語の多くの一般的辞書を提供する。

10

【0113】

単位、接頭辞および記号は、その国際単位(SI)が認める形態で記す。数値範囲は、範囲を規定する数字を包含する。特に断らない限り、ヌクレオチド配列は、左から右に5'から3'配向で記載する。アミノ酸配列は、左から右にアミノからカルボキシ配向で記載する。ここで記載する見出(headings)は、多岐に亘る記載内容を限定するものではなく、明細書を全体として参照することによって理解される得るものである。したがって、用語はその直ぐ後の定義より、明細書全体を参照することによって、より完全に定義される。

20

【0114】

用語“約”は、近似、おおよそ、ほぼ、またはある区域を意味するためにここで使用する。用語“約”が数値範囲と関連して使用されるとき、範囲を、示す数値の上限および下限を超えて伸ばすことにより該数値範囲を修飾する。一般に、用語“約”は、数値を、記載する値の、例えば、10%上または下(高または低)の範囲まで拡大する。例えば、約70%は、(70 - 7)% ~ (70 + 7)%、すなわち、63% ~ 77%を含み得る。

【0115】

用語“治療用分子”は、疾患または状態の処置にインビボで治療効果を有するあらゆる化合物をいう。治療用分子の非限定的例は、天然に存在する、修飾された、組み換えにより産生されたまたは化学合成された、オリゴマー、1以上のヌクレオチド、1以上のヌクレオシド、1以上のアミノ酸、ポリヌクレオチド、ペプチド、タンパク質、ポリペプチドまたは小分子化合物を含む。治療用分子であるタンパク質は、抗体またはその抗原結合フラグメント、融合タンパク質、サイトカイン、細胞表面受容体、ホルモン、増殖因子またはこれらの任意の組み合わせを含む。

30

【0116】

本発明の文脈における用語“オリゴマー”は、2以上のヌクレオチドの共有結合により形成された分子(すなわち、オリゴヌクレオチド)をいう。オリゴマーは、約10 ~ 約50、例えば、10 ~ 20、16 ~ 20、10 ~ 30、10 ~ 35、10 ~ 40または10 ~ 45ヌクレオチド長の連続ヌクレオチド配列を含む。用語“アンチセンスオリゴマー”、“アンチセンスオリゴヌクレオチド”および“ASO”は、ここでは、用語“オリゴマー”と相互交換可能に使用される。種々の態様において、本発明のオリゴマーは、RNA(ユニット)を含まない。ある態様において、オリゴマーは1以上のDNAユニットを含む。ある態様において、本発明のオリゴマーは、直線状分子であるかまたは直線状分子として合成される。ある態様において、オリゴマーは、一本鎖分子であり、同じオリゴマー内の等価領域と相補的である、例えば、少なくとも3、4または5連続ヌクレオチドの短領域(すなわち二本鎖)を含まない - この点について、オリゴマーは(本質的に)二本鎖ではない。ある態様において、オリゴマーは本質的に二本鎖ではない。ある態様において、オリゴマーはsiRNAではない。種々の態様において、本発明のオリゴマーは、完全に連続ヌクレオチド領域からなる。それゆえに、ある態様において、オリゴマーは実質的に

40

50

自己相補性ではない。

【0117】

用語“核酸”、“ヌクレオチド”、“ヌクレオチド配列”または“核酸配列”は、複数の核酸(例えば、2以上、3以上など)を包含することを意図する。用語“核酸”または“ヌクレオシド”は、ポリヌクレオチドに存在する単一核酸セグメント、例えば、DNA、RNAまたはそのアナログをいう。ある態様において、用語“ヌクレオチド”、“単位”および“単量体”は相互交換可能に使用される。ヌクレオチドまたは単量体の配列をいうとき、言及されるのは、A、T、G、CまたはUおよびそのアナログのような塩基の配列であることは認識される。用語“ヌクレオチド配列”は、互いに接続された少なくとも2ヌクレオチドを含む分子をいう。

10

【0118】

ここで使用する用語“ヌクレオチド”は、糖部分、塩基部分およびホスフェートまたはホスホロチオエートヌクレオチド間結合基のような共有結合により結合される基(結合基)を含むグリコシドをいい、DNAまたはRNAのような天然に存在するヌクレオチドならびにここでは“ヌクレオチドアナログ”とも称する修飾糖部分および/または塩基部分を含む天然に存在しないヌクレオチドの両者を包含する。ここで、単一ヌクレオチド(単位)はまた単量体または核酸単位とも称される。ある態様において、用語“ヌクレオチドアナログ”は、修飾糖部分を有するヌクレオチドをいう。修飾糖部分を有するヌクレオチド(例えば、LNA)の非限定的例は、本明細書の他の箇所に記載され、例えば、2'-O-メチル、2'-フルオロ(2'-F)、2'-O-メトキシエチル(2'-MOE)および2',4'-拘束2'-O-エチル(cEt)を含む。他の態様において、用語“ヌクレオチドアナログ”は、修飾塩基部分を有するヌクレオチドをいう。修飾塩基部分を有するヌクレオチドは、5-メチルシトシン、イソシトシン、シュードイソシトシン、5-プロモウラシル、5-プロピニルウラシル、6-アミノプリン、2-アミノプリン、イノシン、ジアミノプリンまたは2-クロロ-6-アミノプリンを含むが、これらに限定されない。ある態様においてここに開示する配列スコア式を言及するとき、シトシンのヌクレオチドアナログは5-メチルシトシンである。

20

【0119】

ここで使用する用語“ポリヌクレオチド”は、連続して結合されている2以上のヌクレオチドをいう。例示的ポリヌクレオチドは、2ヌクレオチド、3ヌクレオチド、4ヌクレオチド、5ヌクレオチド、6ヌクレオチド、7ヌクレオチド、8ヌクレオチド、9ヌクレオチド、10ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、50ヌクレオチド、51ヌクレオチド以上を有するヌクレオチド配列を含み得る。ある態様において、ポリヌクレオチドは、10ヌクレオチド、11ヌクレオチド、12ヌクレオチド、13ヌクレオチド、14ヌクレオチド、15ヌクレオチド、16ヌクレオチド、17ヌクレオチド、18ヌクレオチド、19ヌクレオチド、20ヌクレオチド、21ヌクレオチド、22ヌクレオチド、23ヌクレオチド、24ヌクレオチド、26ヌクレオチド、27ヌクレオチド、28ヌクレオチド、29ヌクレオチド、30ヌクレオチドより長いヌクレオチド配列を含む。他の態様において、ポリヌクレオチドは、オリゴマー(例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド)を含む。さらに他の態様において、ポリヌクレオチドは、タンパク質またはポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。さらなる他の態様において、ポリヌクレオチドは、100より長いヌクレオチド、200より長いヌクレオチド、300より長いヌクレオチド、400より長いヌクレオチド、500より長いヌクレオチド、1000より長いヌクレオチド、1500より長いヌクレオチド、2000より長いヌクレオチド、3000より長いヌクレオチド、4000より長いヌクレオチドまたは5000より長いヌクレオチドのヌクレオチド配列を含む。

30

40

【0120】

ここで使用する用語“ヌクレオシド”は、糖部分および塩基部分を含むグリコシドをいい、それゆえにオリゴマーのヌクレオチド間のヌクレオチド間結合により共有結合により結合されたヌクレオチド単位をいうときに使用できる。バイオテクノロジーの分野におい

50

て、用語“ヌクレオチド”は、核酸単量体または単位をいうためにしばしば使用され、そのようなものとしてオリゴヌクレオチドの文脈においては塩基をいうことができる。例えば“ヌクレオチド配列”は、一般に核酸塩基配列(すなわち、糖主鎖およびヌクレオシド間結合の存在が含意される)をいう。同様に、特にヌクレオシド間結合基の1以上が修飾されているオリゴヌクレオチドの場合、用語“ヌクレオチド”は、“ヌクレオシド”をいうことができ、例えば用語“ヌクレオチド”を、ヌクレオシド間の結合の存在または性質を特定するときでも使用できる。

【0121】

ここで使用する用語“ヌクレオチド長”は、ある配列におけるヌクレオチド(単量体)の総数をいう。例えば、A A A g a t g a a a t t t g c t c T T A (配列番号4)の配列は20ヌクレオチドを有し、ゆえに、配列のヌクレオチド長は20である。用語“ヌクレオチド長”は、ここでは、“ヌクレオチド数”と相互交換可能に使用する。

10

【0122】

ここで使用する用語“トランスクリプト”は、DNAの転写により合成され、プロセッシング後メッセンジャーRNA(mRNA)になる、すなわち、前駆体メッセンジャーRNA(前mRNA)である、一次トランスクリプトおよびプロセッシングされたmRNAそれ自体をいうことができる。用語“トランスクリプト”は“前mRNA”および“mRNA”と相互交換可能に使用できる。DNA鎖が一次トランスクリプトに転写された後、新たに合成された一次トランスクリプトが、種々のタンパク質ならびにmRNA、tRNA、rRNA、lncRNA、miRNAおよびその他のRNAを産生するための成熟した、機能的形態に変換されるためにいくつかの方法で修飾される。それゆえに、用語“トランスクリプト”は、エクソン、イントロン、5'UTRおよび3'UTRを含み得る。

20

【0123】

ここで使用する用語“発現”は、ポリヌクレオチドが遺伝子産物、例えば、RNAまたはポリペプチドを産生する過程をいう。これは、限定はしないが、ポリヌクレオチドのメッセンジャーRNA(mRNA)への転写およびmRNAのポリペプチドへの翻訳を含む。発現は、“遺伝子産物”を産生する。ここで使用する遺伝子産物は、核酸、例えば、遺伝子の転写により産生されたメッセンジャーRNAまたはトランスクリプトから翻訳されたポリペプチドのいずれかであり得る。ここに記載する遺伝子産物は、さらに、転写後修飾、例えば、ポリアデニル化またはスプライシングされた核酸または翻訳後修飾、例えば、メチル化、グリコシル化、脂質付加、他のタンパク質サブユニットとの結合またはタンパク質分解的切断されたポリペプチドを含む。

30

【0124】

本発明のオリゴマー(またはその領域)と、ここに開示するような哺乳動物遺伝子をコードする核酸の標的領域の間の“相補性”の程度の決定において、“相補性”(また“相同性”または“同一性”)の程度は、オリゴマーの配列(またはその領域)と、それと最良にアラインする標的領域の配列(または標的領域の逆相補鎖)の間のパーセンテージ同一性(またはパーセンテージ相同性)として表す。パーセンテージは、2配列間で同一であるアラインした塩基数を計数し、オリゴマーにおける連続単量体の総数で除し、100を乗することにより計算する。このような比較において、ギャップが存在するならば、このようなギャップは、ギャップ内の単量体の数が本発明のオリゴマーと標的領域の間で異なる領域であるよりもむしろ単にミスマッチであるとするのが好ましい。

40

【0125】

ここで使用する用語“相補体”は、対照配列と相補的である配列を示す。相補性が、2DNAまたはRNA配列を互いに逆平行にアラインしたとき、配列における各位置のヌクレオチド塩基が、鏡を見て、物を逆に見るように相補的であるように、2配列で共有される性質であるため、DNA複製および転写の基本原則であることは周知である。それゆえに、例えば、5'“ATGC”3'の配列の相補体は、3'“TAGC”5'または5'“GCAT”3'と書くことができる。ここで使用する用語“逆相補体”、“逆相補性”および“逆相補的”は、用語“相補体”、“相補的”および“相補性”と相互交換可能で

50

ある。

【0126】

ここで使用する用語“同等”は、比較される対照値の最大で30%低いまたは30%高位値を意味する。一例として、値が、値が対照値の最大で30%低いならば、その値は、対照値と“同等”と見なされる：例えば、70は100と同等であり、80は100と同等であり、90は100と同等であり、100は100と同等であり、110は100と同等であり、120は100と同等であり、130は100と同等である。対照のカルシウム振動レベルと同等である分子のカルシウム振動レベルは、分子のカルシウム振動レベルが、対照のカルシウム振動レベルの±30%、±20%、±10%または±5%であることを意味する。

10

【0127】

ここで使用する用語“デザイン”または“オリゴマーデザイン”または“ASO配列”は、ある配列におけるヌクレオチド(例えば、DNA)およびヌクレオチドアナログ(例えば、LNA)のパターンをいう。ここで使用するオリゴマーのデザインは、大文字と小文字の組み合わせにより示す。例えば、tatttccaaattcactttta(配列番号573)のオリゴマー配列は、ASO-002350(TAtTTccaaattcactTTTA)、ASO-002374(TAtTTccaaattcactTtTTA)、ASO-002386(TATTTccaaattcaCTttTA)、ASO-002227(TATtTccaaattcactTTTA)、ASO-002245(TAtttTCcaaaattcactTTTA)、ASO-002261(TATtTccaaattcactTTtTA)、ASO-002276(ATttTCcaaaattcactTTTA)、ASO-002228(TATTTccaaattcaCtTtTA)、ASO-002255(TATTTccaaattcactTTTA)、ASO-002285(TATTTccaaattcactTTtTA)、ASO-002230(TATTTccaaattcactTtTTA)、ASO-002256(TATTTccaaattcAcTttTA)またはASO-002279(TATTTccaaattcActTtTA)のオリゴマーデザインを有することができ、ここで、大文字はヌクレオチドアナログ(例えば、LNA)を示し、小文字はヌクレオチド(例えば、DNA)を示す。

20

【0128】

ここで使用するオリゴマーの“化学構造”なる用語は、オリゴマー、例えば、ヌクレオチド(例えば、DNA)、ヌクレオチドアナログ(例えば、ベータ-D-オキシ-LNA)、ヌクレオチド塩基(例えば、A、T、G、C、UまたはMC)および主鎖構造(例えば、ホスホロチオエートまたはホスホロジエステル)の要素の詳細な記載をいう。例えば、ASO-002350の化学構造は、OxyTs OxyAs DNAts OxyTs OxyTs DNacs DNacs DNAas DN Aas DNAas DNAts DNAts DNacs DNAas DNacs DNAts OxyTs OxyTs OxyTs OxyAsであり得る。図2、16Bおよび20Bは、ここに開示するオリゴマーのいずれか一つに適用させ得る化学構造の非限定的例を記載する。

30

【0129】

“効力”は、通常、特に断らない限り、nMまたはpMでのIC₅₀またはEC₅₀値として表す。IC₅₀は、治療用分子の中央阻害濃度である。EC₅₀は、媒体または食塩水対照と比較した、治療用分子の中央有効濃度である。機能的アッセイにおいて、IC₅₀は、治療用分子非存在下で達成される生物学的応答の50%まで生物学的応答、例えば、mRNA転写またはタンパク質発現を低減させる濃度である。機能的アッセイにおいて、EC₅₀は、生物学的応答、例えば、mRNA転写またはタンパク質発現の50%を生じさせる治療用分子の濃度である。IC₅₀またはEC₅₀は、当分野で知られる任意の数の方法により計算できる。

40

【0130】

“毒性副作用”は、死亡、疼痛、振戦、痙攣、発作、運動の阻害または記憶の喪失を含むが、これらに限定されない、生存対象の衰弱を引き起こす作用である。“毒性”化合物は、対象が、注射、摂取、吸入または他の経路によるなどして毒性化合物に曝されたとき

50

、毒性副作用を引き起こし得て、哺乳動物、例えば、齧歯類への投与に適さない。ある態様において、毒性副作用は、インビボ神経毒性を含む。他の態様において、毒性副作用はインビボ急性神経毒性である。“神経毒性”化合物は、神経細胞および末梢神経組織のような、脳組織を含む神経組織に損傷を起こすような方法で、神経系の正常活動を変え得る。

【0131】

“耐容”は、生存対象に十分耐容性の分子、例えば、投与したとき、目に見えるまたは一般的クオリティ・オブ・ライフ試験もしくはここに記載するインビボ耐容性スコアの測定により試験できる、有害作用がない分子を意味する。

【0132】

“対象”または“個体”または“動物”または“患者”または“哺乳動物”は、診断、予後診断または治療が望まれる、あらゆる対象、特に哺乳動物対象を意味する。哺乳動物対象は、例えば、ヒト、非ヒト霊長類、イヌ、ネコ、モルモット、ウサギ、ラット、マウス、ウマ、ウシ、クマなどを含む、ヒト、家庭用動物、家畜、競技用動物および動物園の動物を含む。

【0133】

ここに開示する治療用分子の“有効量”は、特定の目的を達するのに十分な量である。“有効量”は、当該目的に関して、経験的および定型的方法で決定できる。

【0134】

“処置する”または“処置”または“処置するため”または“軽減する”または“軽減するため”のような用語は、(1)診断された病的状態または障害の症状を治癒、減速、軽減するおよび/または進行停止させる治療的処置および(2)標的病的状態または障害の発生を阻止および/または遅延させる予防的または防止的処置の両者をいう。それゆえに、処置を必要とする対象は、すでに障害を有するもの；障害を有する傾向にあるもの；および障害を予防すべきものを含む。ある態様において、対象は、患者が、例えば、疾患または障害の完全な、部分的なまたは一過性の軽減または関連する症状の消失を示すならば、ここに提供する方法による、ここに他の場所で開示する疾患または状態に対する“処置”が成功する。

【0135】

II. インビボ神経毒性の決定のためにカルシウム振動アッセイを使用する方法

本発明は、分子のある特徴の測定による、分子の毒性(例えば、インビボ急性神経毒性)を試験または決定する方法を提供する。本発明はまた、毒性副作用が低減した分子を選択する方法も提供する。このような方法は、分子の毒性試験中における不必要な動物の死亡を減少させ、そして/または、分子がインビボ投与において安全である可能性を向上させることに資する。本方法はまた、インビボ急性神経毒性を示さない分子の選択のためのスクリーニング時間を削減することによる、候補分子評価期間の効率改善(すなわち、短縮)もし得る。本方法は、毒性がより低いまたは低減された分子の同定を含む。例えば、分子が、低毒性(例えば、インビボ急性神経毒性)であるかどうかを決定するためにアッセイでき、そして低毒性であることが判明したなら、当該分子が、さらなる試験または哺乳動物のような対象への投与に使用するために選択される。ある態様において、分子が低毒性であることが判明したなら、それは、当該分子のさらなる試験のために実験動物に投与される。

【0136】

いかなる理論にも縛られることなく、本発明は、(i)神経細胞のインビトロにおける分子のカルシウム振動と、当該分子(例えば、配列を含むポリヌクレオチド)の配列スコアとの相関、(ii)分子のカルシウム振動と、当該分子のインビボ神経毒性との相関；(iii)分子(例えば、配列を含むポリヌクレオチド)の配列スコアと、当該分子のインビボ神経毒性との相関または(iv)これらの任意の組み合わせを同定する。ある態様において、本発明は、当該分子に曝されていない神経細胞におけるカルシウム振動と同等(すなわち、30%未満または超)の神経細胞におけるカルシウム振動を示す分子は、インビボで哺乳動物

10

20

30

40

50

に投与したとき、低インビボ神経毒性であることを示す。他の態様において、本発明は、当該分子に曝されていない神経細胞におけるカルシウム振動と同等(すなわち、30%未満または超)の神経細胞におけるカルシウム振動を示す分子は、0.2以上の配列スコアを有することを示す。他の態様において、本発明は、0.2以上の配列スコアを有する分子は、当該分子をインビボで哺乳動物に投与したとき、低インビボ神経毒性であることを示す。それゆえに、カルシウム振動アッセイ、配列スコアおよびインビボ神経毒性の間の相関の同定は、インビトロアッセイにおけるカルシウム振動および配列スコアに基づくインビボ神経毒性の予測を可能とする。さらなる態様において、本発明は、上記のとおり、カルシウム振動インビトロアッセイ、配列スコアおよび細胞におけるチューブリン強度の変化に基づき、インビボ神経毒性を予測することを可能とする。

10

【0137】

ある面において、本明細書は、分子の毒性の測定または予測の一つの方法として、カルシウム振動アッセイを開示する。他の面において、本明細書は、分子の毒性の測定または予測のために配列スコア法を提供する。他の面において、本明細書は、カルシウム振動アッセイと配列スコア法を組み合わせる方法を提供する。本明細書は、カルシウム振動アッセイおよび/または配列スコア法と、個々にまたは組み合わせる使用できる、インビボ耐性アッセイも提供する。本明細書に開示されたおよび/または当分野で知られた他の任意の方法を、本カルシウム振動アッセイおよび/または配列スコア法とさらに組み合わせる。

20

【0138】

II. A. カルシウム振動アッセイ

ある態様において、分子の毒性、例えば、インビボ急性神経毒性を、分子と接触しているまたは接触していた神経細胞における、インビトロ細胞内遊離カルシウム振動(カルシウム振動)の測定により試験する。カルシウム振動を測定するアッセイの例を、下にさらに詳細に記載する。ある態様において、分子は、対照細胞におけるカルシウム振動と比較して、該分子に曝された細胞におけるカルシウム振動を有意に低減させないならば、分子は許容される毒性(例えば、インビボ急性神経毒性)を有すると考えられる。ある態様において、対照細胞は、試験分子に曝されていないが、他の点は、試験分子に曝されている細胞と同じ状態下にある、細胞である。ある態様において、カルシウム振動アッセイは、陽性対照細胞(すなわち、非耐性レベルまでカルシウム振動を低減することが知られている分子に曝された細胞)または陰性対照細胞(すなわち、細胞におけるカルシウム振動に影響しないことが知られる分子に曝された細胞)を含むことができる。他の態様において、対照細胞を、試験分子を伴わない、試験分子を神経細胞の培養物に運搬する媒体、例えば、水、緩衝液または食塩水(すなわち、媒体対照)に曝す。

30

【0139】

ある態様において、本発明は、分子と接触しているまたは接触していた神経細胞におけるインビトロカルシウム振動を測定することを含む、該分子のインビボ急性神経毒性を試験、同定または決定する方法を提供する。他の態様において、本発明は、(1)分子を神経細胞の培養物に添加し、(2)神経細胞におけるインビトロカルシウム振動を測定することを含む、該分子のインビボ急性神経毒性を試験、同定または決定する方法を含む。他の態様において、本発明は、(1)分子を神経細胞の培養物に添加し、(2)神経細胞におけるインビトロカルシウム振動を測定する工程を含む、該分子のインビボ急性神経毒性を予測する方法を提供する。

40

【0140】

ある態様において、本発明は、(i)分子を神経細胞の培養物に添加した後、神経細胞インビトロカルシウム振動を測定し、ここで、神経細胞におけるカルシウム振動が、媒体対照におけるカルシウム振動と同等であるかまたはそれより高く、(ii)分子を、それを必要とするヒトに投与することを含む、分子のインビボ急性神経毒性の試験、同定または決定または耐性のインビボ急性神経毒性を有する分子の選択または同定のための方法を提供する。

50

【0141】

他の態様において、本発明は、分子と接触している神経細胞におけるインビトロカルシウム振動を測定することを含む、耐受性のインビボ急性神経毒性を有する分子を選択または同定する方法を含み、ここで、接触神経細胞は、対照細胞と同等またはそれより高いレベルのカルシウム振動を示す。ある態様において、本発明は、(i)分子を神経細胞の培養物に添加し、(ii)インビトロで神経細胞におけるカルシウム振動を測定する工程を含み、ここで、分子を伴う神経細胞は、対照細胞と同等またはそれより高いレベルのカルシウム振動を示す、耐受性のインビボ急性神経毒性を有する分子を選択または同定する方法を提供する。

【0142】

カルシウム振動は、神経細胞の適切な機能に重要である。皮質神経細胞の回路網は、自発的カルシウム振動を受け、神経伝達物質グルタメートの遊離に至ることが示されている。カルシウム振動はまた、グルタメートに加えて、他の神経伝達物質を遊離させるために、ネットワークにおける他の関連する神経細胞に加えて、神経細胞と関連するグリアの相互作用も制御できる。制御されたカルシウム振動が、正常脳機能のための神経回路網の恒常性に必要である。(Shashank et al., Brain Research, 1006(1): 8-17 (2004); Rose et al., Nature Neurosci., 4:773-774 (2001); Zonta et al., J Physiol Paris., 96(3-4):193-8 (2002); Pasti et al., J. Neurosci., 21(2): 477-484 (2001)参照。)グルタメートはまた2つの異なるイオンチャネル、 α -アミノ-3-ヒドロキシ-5-メチル-4-イソキサゾールプロピオン酸(A M P A)受容体およびN-メチル-D-アスパルテート(N M D A)受容体を活性化する。

【0143】

ある態様において、本方法において測定するカルシウム振動は、A M P A依存性カルシウム振動である。ある態様において、カルシウム振動は、N M D A依存性カルシウム振動である。ある態様において、カルシウム振動は、ガンマ-アミノ酪酸(G A B A)依存性カルシウム振動である。ある態様において、カルシウム振動は、A M P A依存性、N M D A依存性またはG A B A依存性カルシウム振動の2以上の組み合わせであり得る。

【0144】

ある態様において、本方法において測定するカルシウム振動は、A M P A依存性カルシウム振動である。A M P A依存性カルシウム振動を測定するために、カルシウム振動を、 Mg^{2+} イオン(例えば、 $MgCl_2$)存在下測定し得る。ある態様において、方法は、A M P A依存性カルシウム振動の検出を可能にする量での Mg^{2+} イオン(例えば、 $MgCl_2$)の添加を含む。ある態様において、A M P A依存性カルシウム振動の検出を可能にする有効なイオン濃度は、少なくとも約0.5 mMである。他の態様において、A M P A依存性カルシウム振動を誘発するための Mg^{2+} イオン(例えば、 $MgCl_2$)の有効なイオン濃度は、少なくとも約0.6 mM、少なくとも約0.7 mM、少なくとも約0.8 mM、少なくとも約0.9 mM、少なくとも約1 mM、少なくとも約1.5 mM、少なくとも約2.0 mM、少なくとも約2.5 mM、少なくとも約3.0 mM、少なくとも約4 mM、少なくとも約5 mM、少なくとも約6 mM、少なくとも約7 mM、少なくとも約8 mM、少なくとも約9 mMまたは少なくとも約10 mMである。特定の態様において、本方法に有用な Mg^{2+} イオンの濃度は1 mMである。ある態様において、本方法に有用な Mg^{2+} イオンの濃度(例えば、 $MgCl_2$)は、約1 mM~約10 mM、約1 mM~約15 mM、約1 mM~約20 mMまたは約1 mM~約25 mMである。 Mg^{2+} イオンは、炭酸マグネシウム、塩化マグネシウム、クエン酸マグネシウム、水酸化マグネシウム、酸化マグネシウム、硫酸マグネシウムおよび硫酸マグネシウム七水和物のようなマグネシウム塩の添加により添加し得る。

【0145】

ある態様において、カルシウム振動を、本方法において細胞内カルシウムレベルの変動を検出する蛍光プローブの使用により測定する。例えば、細胞内カルシウム流動の検出は、細胞のカルシウムイオンと結合する蛍光色素(蛍光カルシウム指示薬として既知)での染色と、結果としての蛍光における検出可能な変化により達成できる(例えば、Molecular P

10

20

30

40

50

robes. Eugene, OR, United States of Americaから入手可能なFluor-4 AMおよびFura Red AM色素)。

【0146】

カルシウム振動アッセイに有用な蛍光色素は、しばしば、ある波長で測定した蛍光強度の較正による、細胞内カルシウム流動の比率計測検出のために提供される。ある態様において、染色細胞(染色された個々の細胞を含む)の蛍光を、所望により、例えば、タイムラプス測定を提供するための、数時点のまたは連続的な(例えば、リアルタイム)、共焦点または標準、蛍光顕微鏡により測定し得る。当業者は、例えば、遺伝的にコード化されるカルシウム指示薬のウイルス形質導入などのような、細胞内カルシウム流動を測定する他の適当な方法が存在し得ることを認識する。

10

【0147】

ある態様において、本方法において測定するカルシウム振動は、神経細胞の培養物内のカルシウム振動における累積的増加であり、それにより最大蛍光シグナルに到達する時間がカルシウム応答の振幅を構成する。蛍光測定は、細胞内カルシウム流動における振動および/またはある振動の細胞内カルシウム流動が最大または最小に向かって前進する点を表す“閾値”の同定のために分析し得る。他の態様において、本方法において測定するカルシウム振動は、カルシウム振動の頻度である。用語“振動頻度”は、振動間の時間をいう。ある態様において、振動頻度は、最初の細胞内カルシウム流動における振動の開始から、2回目の細胞内カルシウム流動における振動の開始までの間隔により決定できる。他の態様において、本方法において測定するカルシウム振動は、振動頻度および振幅の組み合わせであり得る。

20

【0148】

ある態様において、カルシウム振動を、当分野で知られる任意の方法を使用して測定した。ある態様において、カルシウム振動は、蛍光プレートリーダー、例えば、FlexStation 2および3プレートリーダーまたはFLIPR™(蛍光イメージングプレート読取装置)により測定できる。他の態様において、カルシウム振動は、Murphy et al., J. Neurosci. 12, 4834-4845 (1992)に示すとおり測定できる。

【0149】

本発明のために有用な神経細胞は、哺乳動物神経細胞、例えば、マウス神経細胞、ラット神経細胞、ヒト神経細胞または他の神経細胞から単離され得る。ある態様において、神経細胞は、タンパク質をコードする内在性トランスクリプトを発現しない、例えば、ヒトタンパク質がマウス細胞において標的とされるならば、マウス細胞は、そのゲノムからトランスクリプトの内在性バージョンを欠失しておく。ある態様において、初代神経細胞を、製造業者のプロトコルによるパピイン消化により産生できる(Worthington Biochemical Corporation, LK0031050)。ある態様において、前脳を、次の例により調製する。前脳を、マウスMAPTヌルバックグラウンドで標的遺伝子全体を発現するhTauマウスE18 BAC-Tg胚から切断し、37°Cで30~45分、パピイン/DNase/アール平衡塩類溶液(EBSS)でインキュベートし得る。細胞ペレットの粉碎および遠心分離後、反応を、プロテアーゼ阻害剤、ウシ血清アルブミン(BSA)およびDNase含有EBSSとのインキュベーションにより停止させる。細胞を粉碎し、2% B-27、100 μg/ml ペニシリン、85 μg/ml ストレプトマイシン、0.5 mM グルタミン添加Neuro basal(NB, Invitrogen)で洗浄し得る。細胞を、添加NB媒体中、15,000細胞/ウェルでポリ-D-リシン被覆96ウェル光学造影プレート(BD Biosciences)に播種する。

30

40

【0150】

ある態様において、耐容性のインビボ急性神経毒性を有する分子のカルシウム振動を、該分子に曝されていない細胞におけるカルシウム振動と比較する。ある態様において、耐容性のインビボ急性毒性を有する分子のカルシウム振動は、媒体対照細胞(例えば、水または食塩水)におけるカルシウム振動は、約250%以上、約240%以上、約230%以上、約220%以上、約210%以上、約200%以上、約190%以上、約180%以上、約170%以上、約160%以上、約150%以上、約140%以上、約130%

50

以上、約 120% 以上、約 110% 以上、約 100% 以上、約 99% 以上、約 98% 以上、約 97% 以上、約 96% 以上、約 95% 以上、約 90% 以上、約 85% 以上、約 80% 以上、約 75% 以上または約 70% 以上である。ここで使用する用語“以上”は、“少なくとも”と相互交換可能に使用できる。他の態様において、耐容性のインビボ急性毒性でのカルシウム振動は、媒体対照細胞におけるカルシウム振動の 100% 以上である。ある態様において、耐容性のインビボ急性毒性でのカルシウム振動は、媒体対照細胞におけるカルシウム振動の約 70% 以上である。ある態様において、耐容性のインビボ急性毒性でのカルシウム振動は、媒体対照細胞におけるカルシウム振動の約 75% 以上である。他の態様において、耐容性のインビボ急性毒性でのカルシウム振動は、媒体対照細胞におけるカルシウム振動の約 70% ~ 約 250%、約 70% ~ 約 200%、約 75% ~ 約 200%、約 70% ~ 約 180%、約 75% ~ 約 150%、約 80% ~ 約 200%、約 90% ~ 約 200%、約 100% ~ 約 200% または約 80% ~ 約 250% である。

10

【0151】

ある態様において、耐容性のインビボ急性神経毒性を有する分子に曝された細胞におけるカルシウム振動は、媒体対照細胞におけるカルシウム振動と比較して、約 25% 未満、約 20% 未満、約 15% 未満、約 10% 未満、約 5% 未満または約 1% 未満の低減を示す。他の態様において、耐容性のインビボ急性神経毒性を有する分子に曝された細胞におけるカルシウム振動は、媒体対照細胞におけるカルシウム振動と比較して、約 30%、約 25% 未満、約 20%、約 15%、約 10%、約 5%、約 4%、約 3%、約 2% または約 1% 未満減少している。

20

【0152】

ある態様において、カルシウム振動の所望より大きな低減を引き起こす分子は、許容されない神経毒性を有する分子であると考えられる。これらの態様において、カルシウム振動の所望より大きな低減を引き起こす分子は、対象に投与したならば、毒性副作用のリスクを有すると考えられる。ある態様において、本発明は、神経細胞の分子と接触後の、神経細胞におけるインビトロカルシウム振動の測定を含む、耐容されないインビボ神経毒性を有する分子を同定または決定する方法を提供する。ある態様において、耐容されないインビボ神経毒性を有する分子のカルシウム振動は、媒体対照細胞におけるカルシウム振動の 70%、60%、50%、40%、30%、20%、10%、5% または 1% 未満である。ある態様において、本発明は、神経細胞の分子と接触後の、神経細胞におけるインビトロカルシウム振動の測定を含む、耐容されないインビボ神経毒性を有する分子を同定または決定する方法を含み、ここで、分子のカルシウム振動は、媒体対照細胞におけるカルシウム振動の 50% 以下である。

30

【0153】

ある態様において、分子は、治療用分子である。他の態様において、分子は、小分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、ペプチドまたはこれらの任意の組み合わせを含む。分子の非限定的例は、ここでの他の場所に記載する。

【0154】

II. B. 配列スコア法

本発明はまた、ヌクレオチド配列を含む分子(例えば、ポリヌクレオチド)のインビボ神経毒性を試験または決定する方法にも関する。ある態様において、方法は、式(I)

40

【数12】

$$\frac{C \times \text{ヌクレオチドおよびそのアナログの数} - G \times \text{ヌクレオチドおよびそのアナログの数}}{\text{総ヌクレオチド長(数)}} \quad (I)$$

により計算した配列スコアを測定することを含む。他の態様において、本発明のオリゴマーは、0.2 以上の配列スコアを有する。

【0155】

ある態様において、方法は、式(I A)

【数 13】

Cヌクレオチドおよび5-メチルシトシンヌクレオチド数-Gヌクレオチド数

(IA)

総ヌクレオチド長

により計算した配列を測定することを含む。他の態様において、本発明のオリゴマーは、0.2以上の配列スコアを有する。

【0156】

これらの態様において、カットオフ値以上の配列スコアは、オリゴマーの神経毒性の低減に対応する。

【0157】

例えば、ATGCATGCATGCATGC(配列番号3)のヌクレオチド配列は、0の配列スコア((4C - 4G) / 16)を有する。GTGCGTGCGTGCGTGCG(配列番号732)の配列は、-0.25の配列スコア((4C - 8G) / 16)を有する。CTGCCCTGCCCTGCCCTGCC(配列番号733)の配列は、0.25の配列スコア((8C - 4G) / 16)を有する。ある態様において、ヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド(例えば、オリゴマー)は、配列スコア約0.2以上、約0.25以上、約0.3以上、約0.35以上、約0.4以上、約0.45以上、約0.5以上、約0.55以上、約0.6以上、約0.65以上、約0.7以上、約0.75以上、約0.8以上、約0.85以上、約0.9以上、約0.95以上、約1.0以上、約1.5以上、約2.0以上、約3.0以上または約4.0以上を有するならば、許容される神経毒性を有すると考えられる。ある態様において、ポリヌクレオチドは、配列スコア0.2以上、0.25以上、0.3以上、0.35以上、0.4以上、0.45以上、0.5以上、0.55以上、0.6以上以上、0.65以上以上、0.7以上、0.75以上、0.8以上、0.85以上、0.9以上、0.95以上、1.0以上、1.5以上、2.0以上、3.0以上または4.0以上を有するならば、許容される神経毒性を有すると考えられる。ある態様において、許容される神経毒性を有するポリヌクレオチドの配列スコアは、0.2以上である。

【0158】

ある態様において、設定閾値より低い配列スコアを有するヌクレオチド配列を含む分子は、許容されない神経毒性を有する分子と考えられる。これらの態様において、設定閾値より低い配列スコアを有する分子は、対象に投与したならば、毒性副作用のリスクを有するとして考えられる。

【0159】

ある態様において、分子を選択する上記方法のいずれかを組み合わせて使用できる。組み合わせで使用するとき、分子が1を超える方法で許容される神経毒性を有するとして選択されたならば、該分子は、試験対象または患者に投与したときに許容される神経毒性を有する確率が大いと考えられる。

【0160】

ある態様において、本発明は、(i)ここに開示するカルシウム振動アッセイを実施し、(ii)ここに開示する配列スコアを計算することを含む、耐受性のインビボ急性神経毒性を有するポリヌクレオチドを選択する方法を含む、ここで、ポリヌクレオチドのカルシウム振動が媒体細胞のカルシウム振動の75%以上であり、ポリヌクレオチドの配列スコアが0.25以上である。ある態様において、カルシウム振動アッセイおよび/または配列スコア法は、分子のインビボ急性神経毒性の予測、同定または決定に十分であり、さらなるインビボ耐受性試験を必要としない。カルシウム振動アッセイおよび/または配列スコア法は、インビボ神経毒性の決定のために、多数の候補分子をスクリーニングするのに特に有用であり得る。

【0161】

II.C. インビボ耐受性アッセイ

他の態様において、本発明はまた、インビボ耐受性試験の実施による、耐受性のインビボ神経毒性を有する分子を選択または同定する方法にも関する。候補分子の数が少ないと

10

20

30

40

50

き、インビボ耐容性試験は、インビボ神経毒性の直接的指標を提供できる。他の態様において、インビボ耐容性試験をカルシウム振動アッセイおよび/または配列スコア法と組み合わせる使用できる。インビボ耐容性試験を、カルシウム振動アッセイ実施および/または配列スコア計算後、小数の候補分子選択後にも使用できる。ある態様において、インビボ耐容性スコアを、分子の、哺乳動物、例えば、哺乳動物の脳に、例えば、側脳室内(ICV)投与または髄腔内(IT)投与により投与することにより測定する。

【0162】

例えば、分子を、実験動物にICVまたはITにより注射できる。実験動物は、マウス、ラット、モルモットまたはハムスターのような齧歯類でも、実験研究において一般に使用される他の動物でもよい。ある態様において、動物を、分子の注射後0.5時間、1時間、1.5時間、2時間、2.5時間、3時間、3.5時間、4時間、4.5時間または5時間で観察する。動物を、行動的副作用について観察し、0(副作用無し)~20(屠殺せざるを得ない痙攣)のスケールで副作用の重症度を採点する。耐容性スケールを、次の神経神経行動学的カテゴリーの少なくとも一つに割当てることができる：1)活動亢進、2)活動低下および覚醒、3)運動機能障害/失調、4)体位および呼吸異常および5)振戦/痙攣。ある態様において、耐容性スケールは、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4または少なくとも5神経神経行動学的カテゴリーを含む。各カテゴリーを0~4のスケール上に採点し、可能性のある最悪の総スコアは20であり、可能性のある最良の総スコアは0である。動物を、行動の変化について、例えば飼育ケージでだけでなく、他の環境でも観察し得る。ある態様において、動物を、握力および正向反射の測定を含むより詳細な観察のために飼育ケージから出す。

10

20

【0163】

ある態様において、分子の注射後のインビボ累積的耐容性閾値を4と設定する。例えば、図3における相関解析は、4未満のインビボ耐容性を有する分子は、0.2以上の配列スコアを有する傾向にあることを示す。

【0164】

他の態様において、本発明は、(i)カルシウム振動アッセイを実施し、(ii)配列スコアを計算し、(iii)インビボ耐容性試験を実施し、(iv)疾患または状態の処置を必要とする哺乳動物に分子を投与することを含む、耐容性のインビボ神経毒性を有する分子を同定または選択する方法を含む。

30

【0165】

II.D. チューブリン強度アッセイ

ある態様において、本発明の方法は、さらに、分子の長期インビボ毒性の測定を含む。例えば、長期毒性は、細胞が分子と接触したときの、分子による細胞におけるチューブリン強度の変化の測定により決定できる。ある態様において、チューブリン強度の変化を、カルシウム振動、配列スコアおよび/またはインビボ耐容性アッセイにおける変化の一方または両方と共に測定する。細胞におけるチューブリン強度の変化を測定するアッセイの例を下に提供する。ある態様において、分子は、上に定義した、分子に曝されていない細胞、すなわち、対照細胞のチューブリン強度の99%以上、98%以上、97%以上、96%以上、95%以上、90%以上、85%以上、80%以上、75%以上または70%以上の、細胞におけるチューブリン強度を示す。ある態様において、試験分子に曝されていない細胞におけるチューブリン強度を、対照細胞におけるチューブリン強度と称する。ある態様において、分子は、媒体対照細胞におけるチューブリン強度の約30%未満、約25%未満、約20%未満、約15%未満、約10%未満、約5%未満または約1%未満低減させる。

40

【0166】

II.E. 行動試験

本方法は、さらに、分子による動物の行動遂行の測定を含み得る。ある態様において、方法は行動試験スコアを含み、これは、分子を哺乳動物に投与し、哺乳動物の行動遂行を段階分けすることにより測定できる。ある態様において、行動試験は、短期記憶試験、空

50

間学習および記憶試験、歩行分析試験またはこれらの任意の組み合わせである。ある態様において、行動遂行を、分子を哺乳動物、例えば、哺乳動物の脳に、例えば、側脳室内(I C V)または髄腔内(I T)投与により注射し、哺乳動物の行動遂行を 0 ~ 4 のスケールに段階分けすることにより測定する。ある態様において、神経行動学的スコアは、総スコア 3、総スコア 2、総スコア 1 または総スコア 0 以下である。ある態様において、神経行動学的スコアを、下の実施例 5 に記載のとおり決定する。

【 0 1 6 7 】

ある態様において、神経行動学的スコアを、新奇物体認識試験、水迷路試験、歩行分析試験および/またはこれらの任意の組み合わせを含む、次の方法により測定する。治療用分子を、実験動物に I C V または I T により注射する。実験動物は、哺乳動物、例えば、マウス、ラット、モルモットまたはハムスターのような齧歯類でも、実験研究において一般に使用される他の動物でもよい。ある態様において、動物分子の注射後約 0.5 時間、約 1 時間、約 1.5 時間、約 2 時間、約 2.5 時間、約 3 時間、約 3.5 時間、約 4 時間、約 4.5 時間または約 5 時間で観察する。

10

【 0 1 6 8 】

ある態様において、神経行動学的スコアを新奇物体認識試験で得る。短期認識記憶を、新奇物体認識(N O R)課題を使用して測定できる。N O R 試験は、齧歯類が、馴染みのあるものよりも、新奇物体を探索する自発的行動に基づく(Dodart et. al., Neuroreport (1997) 8(5): 1173-8; Ennaceur and Delacour, Behav. Brain Res. (1988) 31 (1):47-59)。N O R 試験は、実施例 5 に示す試験に準じて使用しても、必要に応じて修飾してもよい。

20

【 0 1 6 9 】

ある態様において、神経行動学的スコアを、モリス水迷路のような水迷路試験により得る。空間学習および記憶を、Morris J. Neurosci. (1984) 11(1):47-60) に示す、モリス水迷路試験またはここでの実施例 5 に示す試験に基づき評価できる。他の態様において、空間学習および記憶試験を、必要に応じて、修飾モリス水迷路試験により評価できる。

【 0 1 7 0 】

ある態様において、神経行動学的スコアを、キャットウォークのような歩行分析試験で得る。キャットウォーク(Noldus, Netherlands)は、複数の静的および動的歩行パラメータの客観的定量化を可能にする自動化およびコンピューター化歩行分析技術である。歩行分析試験を、実施例 5 に示すキャットウォークアッセイまたは必要に応じて修飾キャットウォーク試験により測定できる。

30

【 0 1 7 1 】

行動試験データの統計的分析は、当業者に知られる統計的分析法を使用して分析できる。ある態様において、行動試験の統計的分析は、GraphPad Prism(GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA)を使用して実施する。N O R について、データを、群内分析のための対応のある t 検定を使用して、または、群間分析のための A N O V A と続くダネット事後検定により分析する。モリス水迷路(M W M)について、反復 M W M A N O V A を、取得段階の分析に使用し、一元配置分散分析と続くダネット事後を、プローブテスト分析に使用する。

40

【 0 1 7 2 】

いかなる理論にも縛られないが、対照(例えば、食塩水)と比較して、カルシウム振動における低減が少ない(70%以上)分子は、高配列スコア(例えば、0.2より高い)を有する。またいかなる理論にも縛られないが、対照と比較して、カルシウム振動における低減が少ない(70%以上)および高配列スコア(0.2より高い)である分子は、低インピボ神経行動学的スコア(例えば、4未満)を有する。他の態様において、対照と比較して、カルシウム振動における低減が少ない(70%以上)および高配列スコア(0.2より高い)である分子は、耐容性のインピボ急性神経毒性を有する。

【 0 1 7 3 】

II. F. 診断または治療方法

50

本方法により選択した分子は、例えば、診断、治療および予防のための研究薬として利用できる。ある態様において、本発明は、分子を選択し、次いで該分子を使用する両者のための方法を提供する。

【0174】

他の態様において、本方法により選択された分子は、治療用分子である。さらなる他の態様において、カルシウム振動アッセイ、配列スコア法および/またはインビボ耐容性試験を含む方法は、さらに、選択分子を、それを必要とする対象に投与することを含み得る。

【0175】

それゆえに、治療について、疾患または障害を有することが疑われる動物またはヒトを、本発明により分子を投与することにより処置できる。さらに提供されるのは、治療的または予防的有効量の本発明の分子の1以上の投与による、疾患または状態を有することが疑われるまたは素因があるヒトの処置ような、哺乳動物の処置の方法である。ある態様において、本発明は、(1)ここでの他の箇所に記載されるとおり耐容性のインビボ急性神経毒性を有する分子を選択し(例えば、カルシウム振動アッセイ、配列スコア計算および/またはインビボ耐容性試験)、(2)該分子を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物、例えば、ヒトの処置法を提供する。本発明の分子、コンジュゲートまたは医薬組成物を、一般に有効量で投与する。ある態様において、本発明の分子またはコンジュゲートを治療に使用する。

10

【0176】

本発明はまた、神経学疾患または状態の処置のために、対象に分子を投与する方法も提供する。ある態様において、神経障害は、神経変性障害、てんかん性障害、特発性成人てんかん性障害またはこれらの任意の組み合わせである。他の態様において、疾患または状態は、タウオパチーを伴う神経変性障害(すなわち、脳におけるタウ・タンパク質の蓄積が関与する神経変性疾患)、タウオパチーを伴うてんかん性障害(脳におけるタウ・タンパク質の蓄積が関与するてんかん性障害)、タウオパチーを伴わないてんかん性障害(脳におけるタウ・タンパク質の蓄積が関与しないてんかん性障害)、タウオパチーを伴わない特発性成人てんかん性障害(脳におけるタウ・タンパク質の蓄積が関与しない特発性成人てんかん性障害)またはこれらの任意の組み合わせである。ある他の態様において、処置または予防のための疾患または状態は、タウオパチーを伴う神経変性障害である。

20

30

【0177】

ある態様において、疾患または状態は、進行性核上性麻痺、ダウン症候群、パンチロランカー(慢性外傷性脳症および他の外傷性脳傷害)、17番染色体に連鎖するパーキンソンズを伴う前頭側頭型認知症(FTDP-17)、リティコ・ボディグ病(グアム・パーキンソン痴呆複合)、神経原線維変化優位型認知症、神経節膠腫、神経節細胞腫、髄膜血管腫症、亜急性硬化性全脳炎、鉛脳症、片側巨脳症、結節性硬化症、ハラーホルデン・スパッツ病、ピック病、大脳皮質基底核神経節変性、嗜銀顆粒、大脳皮質基底核変性症、リポフスチン沈着症、前頭側頭型認知症、核上性麻痺および前頭側頭葉変性、脳ネットワーク機能障害の疾患(例えば、てんかんおよびうつ病の全ての形態)、ドラベ症候群、脊髄障害、末梢ニューロパチー、頭側神経障害(例えば、三叉神経痛)、自律神経系障害(例えば、自律神経障害または多系統萎縮症)、中枢および末梢神経系の運動障害(例えば、パーキンソン病、本態性振戦、筋萎縮性側索硬化症、トゥレット症候群、多発性硬化症または種々のタイプの末梢ニューロパチー)、睡眠障害(例えば、ナルコレプシー)、片頭痛または他のタイプの頭痛(例えば、群発頭痛および緊張型頭痛)、腰および頸部痛、中枢ニューロパチー、神経精神疾病、注意欠損活動亢進障害、自閉症、ハンチントン病、レット症候群、アンジェルマン症候群、器質精神病、脳または脊髄の感染髄膜炎を含む)またはプリオン病)、貧血、癌、白血病、炎症性状態または自己免疫性疾患(例えば関節炎、乾癬、エリテマトーデス、多発性硬化症)、細菌感染およびこれらの任意の組み合わせである。

40

【0178】

ある他の態様において、疾患または状態は、タウオパチーを伴う神経変性障害、例えば

50

、進行性核上性麻痺、前頭側頭型認知症 - タウ (F T D - タウ)、17番染色体に連鎖するパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症 (F T D P - 17)、大脳皮質基底核変性症 (C B D)、外傷性脳傷害、慢性外傷性脳症、H I V 関連神経認知障害、嗜銀顆粒、ダウン症候群 - アルツハイマー病、健忘性軽度認知機能障害 - アルツハイマー病、パーキンソン病認知症、ハラールホルデン・スパッツ病 (パントテン酸キナーゼ関連神経変性)、ニーマン・ピック病 C 型、筋緊張性ジストロフィー、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病またはハンチントン病である。ある態様において、疾患または状態は、タウオパチーを伴うてんかん性障害、例えば、片側巨脳症、結節性硬化症複合、限局性皮質異形成 2 b 型または神経節細胞腫瘍である。ある態様において、疾患または状態は、タウオパチーを伴わないてんかん性障害、例えば、ドラベ症候群 (乳児重症ミオクロニーてんかん)、側頭葉てんかん、大田原症候群 (サブプレッション・バーストを伴う早期乳児てんかん性脳症)、ラフォラ体病、全般てんかん熱性痙攣、小児攣縮 (ウェスト症候群)、レノックス・ガスター症候群、アンジェルマン症候群、レット症候群、ランドウ・クレフナー症候群である。ある態様において、疾患または状態は、タウオパチーを伴わない特発性成人てんかん性障害、例えば、限局性発作、単純限局性発作 (意識消失無し)、限局性認知障害発作 (意識障害)、全般性強直間代性 (G T C) 痙攣に進展する限局性発作、全般性発作 (皮質下構造が関与する両側性発射を伴う痙攣性または非痙攣性)、欠神発作、ミオクローヌス性発作、間代性発作、緊張性発作、緊張性 - 間代性発作またはアトニー性発作である。ある態様において、疾患または状態は、自閉症障害、自閉症スペクトラム障害 (例えば、精神障害の診断と統計マニュアル第 V 版に定義のとおり)、アスペルガー障害または広汎性発達障害である。

10

20

【0179】

本発明は、さらに、アルツハイマー病、進行性核上性麻痺、ダウン症候群、パンチドラッカー (慢性外傷性脳症および他の外傷性脳傷害)、17番染色体に連鎖するパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症 (F T D P - 17)、リティコ・ボディグ病 (グアム - パーキンソン痴呆複合)、神経原線維変化優位型認知症、神経節膠腫、神経節細胞腫、髄膜血管腫症、亜急性硬化性全脳炎、鉛脳症、片側巨脳症、結節性硬化症、ハラールホルデン・スパッツ病、ピック病、大脳皮質基底核神経節変性、嗜銀顆粒、大脳皮質基底核変性症、リポフスチン沈着症、前頭側頭型認知症、核上性麻痺および前頭側頭葉変性から選択される疾患のような、神経細胞と関連するまたはここで言及する疾患の 1 以上の処置に使用するための、本発明の分子を提供する (Frost et. al., Trends Cell Biol (2015) 25: 216-53; D yment et. al., Neurobiol. Aging (2014) Sept 6: S0197-4580; Moussaud et. al., Mol. Neurodegen (2014) 29:43 Ross et. al., South Med. J. (2014) 107: 715-21), Huntington's disease, Rett Syndrome, and Angelman syndrome. In addition, the invention provides for therapeutic molecule use for the treatment diseases of brain network dysfunction including all forms of epilepsy and depression (Inoue et. al., Epilepsy (2012) 102: 8-12; Xi et. al., Med Hypotheses (2011) 76: 897-900; Hou et. al., Can. J. Psychiatry (2004) 3: 164-71にレビュー)。

30

40

【0180】

本発明はまた、ここに記載する疾患または障害の処置用医薬の製造またはここに記載する障害の処置法にのための、記載する本発明の分子またはコンジュゲートの使用を提供する。ここに記載する疾患または障害の処置に使用する組成物も提供される。

【0181】

III. 分子 (例えば、治療用分子)

本発明によりスクリーニングまたは選択する分子は、治療用分子を含む。ある態様において、治療用分子は、タンパク質、ペプチド、ポリヌクレオチド (例えば、オリゴマー)、サッカライド、脂質、リポソームおよび粒子、生体材料、医薬品、ビタミン、核酸、アミノ酸、ポリペプチド、酵素補因子、ステロイド、炭水化物、ヘパリン、金属含有薬剤、受容体アンタゴニスト、受容体アゴニスト、受容体または受容体の一部、細胞外マトリクスタンパク質、細胞表面分子、抗原、ハプテン、小分子またはこれらの任意の組み合わせを含む。

50

【 0 1 8 2 】

ある態様において、治療用分子は、サイトカイン、酵素、増殖因子、モノクローナル抗体、抗体フラグメント、一本鎖抗体、アルブミン、免疫グロブリン、凝固因子、ソマトロピン、アミラーゼ、リパーゼ、プロテアーゼ、セルロース、ウロキナーゼ、ガラクトシダーゼ、スタフィロキナーゼ、ヒアルロニダーゼ、組織プラスミノゲン活性化因子またはこれらの任意の組み合わせを含む、タンパク質である。

【 0 1 8 3 】

ある態様において、本発明の分子は、抗原結合部位(例えば、抗体、抗体バリエーションまたは抗体フラグメントの抗原結合部位)、リガンドの受容体結合部分または受容体のリガンド結合部分である治療用分子の少なくとも一つを含む。

10

【 0 1 8 4 】

他の態様において、本発明の分子は、インピボで1以上の内因性に産生されたタンパク質またはペプチド、該タンパク質またはペプチドをコードする1以上のmRNAまたは前mRNAまたは該タンパク質またはペプチドをコードする1以上の遺伝子を標的とする。ある態様において、分子は、ポリヌクレオチド(例えば、オリゴマー)、ヌクレオチドまたは小分子を含む。

【 0 1 8 5 】

分子はまた、ここで開示する方法に有用な治療用分子として、あらゆる治療小分子または薬物を含み得る。小分子は、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質およびポリヌクレオチドではないあらゆる治療用分子を含み得る。小分子は、単一ヌクレオチドまたはヌクレオシド、例えば、RNAまたはDNAを含み得る。

20

【 0 1 8 6 】

ある態様において、治療用分子は、細胞の活性化または阻害を調節する(例えば、細胞表面受容体に結合し、活性化または阻害性シグナルの伝達を起こすことによる)。ある態様において、治療用分子は、シグナル伝達の開始ができ、これは、細胞死をもたらすか(例えば、細胞シグナル誘発経路、補体固定または結合分子に存在するペイロード(例えば、毒性ペイロード)への露出による)または対象における疾患または障害を調節する(例えば、細胞死滅の仲介または促進または生体利用可能である物質の量の調節による(例えば、対象におけるTNFのようなリガンドの量の増強または減少による))。他の態様において、本発明の分子は、低減または排除の標的である抗原、例えば、細胞表面抗原または可溶性抗原に特異的な少なくとも一つの結合部位を有する。

30

【 0 1 8 7 】

他の態様において、本発明の治療用分子の標的分子(例えば抗原)への結合は、例えば、組織または循環からの、標的分子または標的分子を発現する細胞の低減または排除をもたらす。他の態様において、治療用分子は、標的分子の存在の検出に使用できる標的分子に特異的な少なくとも一つの結合部位を有する(例えば、混入物の検出または状態もしくはは障害の診断のため)。例示的治療用分子を、下にさらに記載する。

【 0 1 8 8 】

III. A. 抗原結合部分

ある態様において、本発明に有用な分子は、結合部位、例えば、抗体の抗原結合部分である、少なくとも一つの治療用分子を含む。ある態様において、ここに開示する方法のための分子はポリペプチドである。

40

【 0 1 8 9 】

他の態様において、本発明の分子の結合部位は、抗体の抗原結合部分を含む。用語“抗原結合部分”は、抗原と結合するまたは抗原結合(すなわち、特異的結合)についてインタクト抗体(すなわち、それらが由来するインタクト抗体)と競合する、免疫グロブリン、抗体または抗体バリエーションのポリペプチドフラグメントをいう。例えば、抗原結合部分は、抗体または当分野で知られる抗体バリエーションのいずれかに由来し得る。抗原結合部分は、当分野で周知の組み換えまたは生化学的方法により産生できる。例示的抗原結合フラグメントは、VHおよびVL領域、Fv、Fab、Fab'および(Fab')₂を含む。

50

【0190】

他の態様において、本発明の治療用分子は、一本鎖結合分子からの結合部位(例えば、一本鎖可変領域またはs c F v)を含む。一本鎖抗体の産生について記載されている技術(米国特許4,694,778号;Bird, Science 242:423-442 (1988);Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 (1988);およびWard et al., Nature 334:544-554 (1989))を、一本鎖分子の産生に応用できる。一本鎖抗体は、F v領域の重鎖および軽鎖フラグメントをアミノ酸橋により連結し、一本鎖抗体をもたらすことにより形成できる。大腸菌における機能的F vフラグメントの集合の技術も使用できる(Skerra et al., Science 242:1038-1041 (1988))。

【0191】

本発明で有用なポリペプチドは、当分野で認識されているプロトコールを使用して抗体から誘導体化させたまたは標準分子生物学技術を使用して当分野で認識されている抗体から得ることができる可変領域またはその一部(例えばV Lおよび/またはV Hドメイン)を含み得る。

【0192】

ある態様において、本発明で有用な分子は、癌の処置に有用な分子と結合する。

【0193】

さらなる他の態様において、本発明で有用な分子は、自己免疫性または炎症性疾患もしくは障害の処置に有用な分子と結合する。

【0194】

例えば、分子、例えば、ポリペプチドは、自己免疫性疾患または障害を担う、免疫細胞(例えば、B細胞またはT細胞)上に存在する抗原または自己抗原と結合できる。本発明の方法および組成物により診断、予防または処置できる自己免疫性疾患の例は、クローン病;炎症性腸疾患(IBD);全身性エリテマトーデス;潰瘍性大腸炎;リウマチ性関節炎;グッドパスチャー症候群;グレーブス病;橋本甲状腺炎;尋常性天疱瘡;重症筋無力症;強皮症;自己免疫性溶血性貧血;自己免疫性血小板減少性紫斑病;ポリ筋炎および皮膚筋炎;悪性貧血;シェーグレン症候群;強直性脊椎炎;脈管炎;I型糖尿病;神経障害、多発性硬化症および自己免疫性疾患の結果引き起こされる二次的疾患を含むが、これらに限定されない。

【0195】

他の態様において、本発明の治療用分子は、炎症性疾患または障害と関連する標的分子と結合する。ここで使用する用語“炎症性疾患または障害”は、炎症、例えば、血流増加、浮腫、免疫細胞活性化(例えば、増殖、サイトカイン産生または貪食増強)により、少なくとも一部引き起こされる、または悪化する、疾患または障害である。例えば、本発明の分子は、例えば、対象の利益のために、異常な量、例えば、改変するのが有益で有り得る量で、ある領域に関与するまたは存在する炎症性因子(例えば、マトリクスメタロプロテイナーゼ(MMP)、TNF、インターロイキン、血漿タンパク質、サイトカイン、脂質代謝物、プロテアーゼ、毒性遊離基、ミトコンドリアタンパク質、アポトーシス性タンパク質、接着分子など)と結合できる。炎症過程は、生存組織の損傷に対する応答である。炎症の原因は、物理的損傷、化学物質、微生物、組織壊死、癌または他の因子によるものであり得る。急性炎症は、短時間続く、例えば、数日しか続かない。しかしながら、より長く続くならば、慢性炎症と称し得る。

【0196】

炎症性障害は、急性炎症性障害、慢性炎症性障害および再発性炎症性障害を含む。急性炎症性障害は、一般に比較的短期間であり、約数分~約1~2日継続するが、数週間継続し得る。急性炎症性障害の主特徴は、血流増加、体液および血漿タンパク質の滲出(浮腫)および好中球のような白血球の遊出である。慢性炎症性障害は、一般に、長い期間の、例えば、数週間~数ヶ月から数年またはさらに長いものであり、組織学的にリンパ球およびマクロファージの存在ならびに血管および結合組織の増殖と関係する。再発性炎症性障害は、一定期間後に再発するまたは周期的発症を有する障害である。再発性炎症性障害の例

10

20

30

40

50

は、喘息および多発性硬化症を含む。いくつかの障害は、1以上のカテゴリーに入り得る。炎症性障害は、一般に熱、発赤、腫脹、疼痛および機能の喪失により特徴付けられる。炎症性障害の原因の例は、微生物感染(例えば、細菌、ウイルスおよび真菌感染)、物理的因子(例えば、熱傷、放射線および外傷)、化学的因子(例えば、毒素および腐食性物質)、組織壊死および種々のタイプの免疫性反応を含むが、これらに限定されない。炎症性障害の例は、骨関節症、リウマチ性関節炎、急性および慢性感染(細菌、ウイルスおよび真菌)；一般的な風邪を含む、急性および慢性気管支炎、副鼻腔炎および他の呼吸器感染；急性および慢性胃腸炎および大腸炎；急性および慢性膀胱炎および尿道炎；急性呼吸器窮迫症候群；嚢胞性線維症；急性および慢性皮膚炎；急性および慢性結膜炎；急性および慢性漿膜炎(心膜炎、腹膜炎、滑膜炎、胸膜炎および腱炎)；尿毒症性心膜炎；急性および慢性胆嚢炎；急性および慢性膈炎；急性および慢性ブドウ膜炎；薬物反応；および熱傷(熱的、化学的および電氣的)を含むが、これらに限定されない。

10

20

30

40

50

【0197】

さらに他の態様において、本発明の治療用分子は、神経学疾患または障害の処置に有用な分子と結合する。例えば、ポリペプチドは、神経細胞(例えば、ニューロンまたはグリア細胞)に存在する抗原と結合する。ある態様において、神経障害と関連する抗原は、上記自己免疫性または炎症性障害であり得る。ここで使用する用語“神経学疾患または障害”は、神経系が変性している(例えば、神経変性障害ならびに神経系が適切な発育ができないまたは傷害、例えば、脊髄傷害後再生できない障害)、対象における障害または状態を含む。本発明の方法および組成物により診断、予防または処置できる神経障害の例は、多発性硬化症、ハンチントン病、レット症候群、アンジェルマン症候群、アルツハイマー病、パーキンソン病、進行性核上性麻痺、てんかん、ドラベ症候群、神経障害性疼痛、外傷性脳傷害、ギラン・バレー症候群および慢性炎症性脱髄性ポリニューロパチー(CIDP)を含むが、これらに限定されない。

【0198】

他の面において、本発明の治療用分子は、抗体の修飾形態由来の抗原結合部位またはその一部を含む。このような形態の例は、例えば、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、ナノボディ、ラクダ類、D a b、四価抗体、イントラダイアボディ(例えば、Jendreyko et al. 2003. J. Biol. Chem. 278:47813)、融合タンパク質(例えば、抗体サイトカイン融合タンパク質、Fc受容体の少なくとも一部に融合したタンパク質)および二特異的抗体を含む。

【0199】

III. B. 非免疫グロブリン結合分子

ある他の態様において、本発明の治療用分子は、非免疫グロブリン結合分子に由来する1以上の結合部位を含む。ここで使用する用語“非免疫グロブリン結合分子”は、結合部位が、免疫グロブリン以外のポリペプチドに由来するが、所望の結合特異性を与えるように操作(例えば、変異誘発)できる、一部(例えば、スキャフォールドまたはフレームワーク)を含む、結合分子である。

【0200】

抗体分子に由来しない治療用分子の他の例は、下に、より詳細に記載する受容体結合部位およびリガンド結合部位を含む。

【0201】

非免疫グロブリン治療部分は、免疫グロブリンではない免疫グロブリンスーパーファミリーのメンバー(例えばT細胞受容体または細胞接着タンパク質(例えば、CTLA-4、N-CAM、テロキ))に由来する結合部位部分を含み得る。このような結合分子は、免疫グロブリン折り畳みの高次構造を保持し、IGF1-Rエピトープと特異的結合できる、結合部位部分を含む。他の態様において、本発明の非免疫グロブリン結合分子はまた、免疫グロブリン折り畳みに基づかないが(例えば、アンキリン反復タンパク質またはフィブロネクチンのような)、それにもかかわらず標的(例えばIGF-1Rエピトープ)と特異的結合できる、タンパク質トポロジーを有する結合部位も含む。

【0202】

ある態様において、治療部分は、フィブロネクチン結合分子に由来する。フィブロネクチン結合分子(例えば、フィブロネクチンI型、II型またはIII型ドメインを含む分子)は、CDR様ループを示し、これは、免疫グロブリンと対照的に、鎖内ジスルフィド結合に頼らない。ある例示的態様において、フィブロネクチンポリペプチドは、Adnectin(登録商標)(Adnexus Therapeutics, Waltham, MA)のようである。

【0203】

他の態様において、本発明の治療用分子は、Affibody(登録商標)(Abcam, Cambridge, MA)からの結合部位を含む。他の態様において、本発明の治療用分子は、抗calicin(登録商標)(Pieris AG, Friesing, Germany)からの結合部位を含む。他の態様において、本発明の治療用分子は、システイン富ポリペプチドからの結合部位を含む。他の態様において、本発明の治療用分子は、反復タンパク質からの結合部位を含む。本発明の分子において用い得る他の非免疫グロブリン結合部位は、Src相同性ドメイン(例えばSH2またはSH3ドメイン)、PDZドメイン、ベータ-ラクタマーゼ、高親和性プロテアーゼ阻害剤または小ジスルフィド結合タンパク質スキファールド、例えばサソリ毒素に由来する結合部位を含む。

10

【0204】

III.C. 受容体またはリガンドの結合部分

他の面において、本発明の分子は、受容体のリガンド結合部位および/またはリガンドの受容体結合部分を含む。本発明の分子に存在し得る受容体またはリガンドの結合部分の例を、下に示す。

20

【0205】

III.C.1. サイトカインおよびサイトカイン受容体

サイトカインは、リンパ球の増殖、分化および機能的活性化に多面的効果を有する。種々のサイトカインまたはその受容体結合部分を、治療用分子、結合部位および/またはドメインとして本発明の融合タンパク質に利用できる。例示的サイトカインは、インターロイキン(例えばIL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13およびIL-18)、コロニー刺激因子(CSF)(例えば顆粒球CSF(G-CSF)、顆粒球-マクロファージCSF(GM-CSF)および単球マクロファージCSF(M-CSF))、腫瘍壊死因子(TNF)アルファおよびベータ、細胞毒性Tリンパ球抗原4(CTLA-4)およびインターフェロン- γ 、または γ のようなインターフェロン(米国特許4,925,793号および4,929,554号)を含む。

30

【0206】

サイトカイン受容体は、一般にリガンド特異的アルファ鎖および共通ベータ鎖からなる。例示的サイトカイン受容体は、GM-CSF、IL-3(米国特許5,639,605号)、IL-4(米国特許5,599,905号)、IL-5(米国特許5,453,491号)、IL10受容体、IFN γ (EP0240975号)および受容体のTNFファミリー(例えば、TNF α (例えばTNFR-1(EP417,563号)、TNFR-2(EP417,014号)、リンホトキシンベータ受容体)のものを含む。

40

【0207】

III.C.2. 接着タンパク質

接着分子は、細胞を互いに相互作用させる、膜結合タンパク質である。白血球ホーミング受容体および細胞接着分子またはその受容体結合部分を含む種々の接着タンパク質が、治療用分子、結合部位および/またはドメインとして、本発明の融合タンパク質に取り込まれ得る。白血球ホーミング受容体は、炎症中白血球細胞表面に発現され、細胞外マトリクス要素への結合に介在する α 1インテグリン(例えばVLA-1、2、3、4、5および6)および血管内皮上の細胞接着分子(CAM)に結合する α 2インテグリン(例えばLFA-1、LPAM-1、CR3およびCR4)を含む。例示的CAMは、ICAM-1、ICAM-2、VCAM-1およびMAdCAM-1を含む。他のCAMは、E-セ

50

レクチン、L - セレクチンおよびP - セレクチンを含むセレクチンファミリーのものを含む。

【0208】

III. C. 3. ケモカイン

白血球の感染部位への遊走を刺激する走化性タンパク質であるケモカインも、本発明の融合タンパク質に取り込まれ得る。例示的ケモカインは、マクロファージ炎症性タンパク質(MIP - 1 - およびMIP - 1 -)、好中球走化性因子およびRANTES(活性化正常T細胞における発現および分泌調節性)を含む。

【0209】

III. C. 4. ホルモン

本発明の融合タンパク質における治療部分として使用するための例示的成長ホルモンは、レニン、ヒト成長ホルモン(HGH; 米国特許5,834,598)、N - メチオニルヒト成長ホルモン; ウシ成長ホルモン; 成長ホルモン放出因子; 副甲状腺ホルモン(PTH); 甲状腺刺激ホルモン(TSH); チロキシン; プロインスリンおよびインスリン(米国特許5,157,021号および6,576,608号); 濾胞刺激ホルモン(FSH); カルシトニン、黄体化ホルモン(LH)、レプチン、グルカゴン; ボンベシン; ソマトロピン; ミュラー管抑制物質; リラキシンおよびプロリラキシン; ゴナドトロピン関連ペプチド; プロラクチン; 胎盤性ラクトゲン; OBタンパク質; またはミュラー管抑制物質を含む。

【0210】

III. C. 5. 受容体およびリガンド

ある態様において、本発明のポリペプチドは、リガンドまたは受容体の結合部位(例えば受容体の細胞外ドメイン(ECD))と、少なくとも一つの遺伝子融合させたFc領域(すなわち、scFc領域)を組み合わせる。ある態様において、受容体のリガンド結合部分は、免疫グロブリン(Ig)スーパーファミリーの受容体(例えば、可溶性T細胞受容体、例えば、mTCR(登録商標)(Medigene AG, Munich, Germany)、上記TNF受容体スーパーファミリーの受容体(例えば、イムノアドヘシンの可溶性TNF受容体)、グリア細胞由来神経栄養因子(GDNF)受容体ファミリーの受容体(例えば、GFR3)、G - タンパク質共役受容体(GPCR)スーパーファミリーの受容体、チロシンキナーゼ(TK)受容体スーパーファミリーの受容体、リガンド開口型(LG)スーパーファミリーの受容体、ケモカイン受容体スーパーファミリーの受容体、IL - 1 / トール様受容体(TLR)スーパーファミリーおよびサイトカイン受容体スーパーファミリーから選択される受容体に由来する。

【0211】

他の態様において、リガンドの受容体結合部分の結合部位またはドメインは、上記抗体または抗体バリエーションにより結合されるリガンドに由来する。例えば、リガンドは、免疫グロブリン(Ig)スーパーファミリーの受容体、TNF受容体スーパーファミリーの受容体、G - タンパク質共役受容体(GPCR)スーパーファミリーの受容体、チロシンキナーゼ(TK)受容体スーパーファミリーの受容体、リガンド開口型(LG)スーパーファミリーの受容体、ケモカイン受容体スーパーファミリーの受容体、IL - 1 / トール様受容体(TLR)スーパーファミリーおよびサイトカイン受容体スーパーファミリーからなる群から選択される受容体と結合できる。ある例示的態様において、リガンドの受容体結合部分の結合部位は、上記TNFリガンドスーパーファミリーに属するリガンド(例えば、CD40L)に由来する。

【0212】

増殖因子またはその受容体(またはその受容体結合またはリガンド結合部分)を、本発明の融合タンパク質に取り込み得る。例示的増殖因子は、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)およびそのアイソフォーム(米国特許5,194,596); aFGFおよびbFGFを含む線維芽細胞増殖因子(FGF); 心房性ナトリウム利尿因子(ANF); 肝増殖因子(HGF; 米国特許5,227,158号および6,099,841号)、骨由来神経栄養因子(BDNF)、グリア細胞由来神経栄養因子リガンド(例えば、GDNF、ニュートリン、アルテミ

10

20

30

40

50

ンおよびパーセフィン)、ニューロトロフィン3、4、5または6(NT-3、NT-4、NT-5またはNT-6)またはNGF-血小板由来増殖因子(PDGF)(米国特許4,889,919号、4,845,075号、5,910,574号および5,877,016号)のような神経増殖因子のような神経栄養因子; TGF-アルファおよびTGF-ベータ(WO90/14359号)、骨形態発生タンパク質(BMP)を含む骨誘導因子のようなトランスフォーミング増殖因子(TGF); インシュリン様増殖因子IおよびII(IGF-IおよびIGF-II; 米国特許6,403,764号および6,506,874号); エリスロポエチン(EPO); Thrombopoietin(TPO; 幹細胞因子(SCF)、トロンボポエチン(TPO、c-Mplリガンド)およびWntポリペプチド(米国特許6,159,462号)を含む。

10

【0213】

本発明の治療部分として使用し得る例示的増殖因子受容体は、EGF受容体; VEGF受容体(例えばFlt1またはFlk1/KDR)、PDGF受容体(WO90/14425); HGF受容体(米国特許5,648,273および5,686,292)ならびにNGF、BDNFおよびNT-3に結合するp75NTRまたはp75とも称される低親和性受容体(LNGFR)および受容体チロシンキナーゼのtrkファミリーメンバー(例えばtrkA、trkB(EP455,460号)、trkC(EP522,530号))である高親和性受容体を含む神経栄養受容体を含む。

【0214】

III.C.6. ヘテロ二量体受容体

ある態様において、サイトカインと組み合わせさせたとき、第一シグナル伝達要素と結合して、非機能的中間体を形成し、これが、次いで、第二シグナル伝達要素と結合して、受容体二量体化および結果としてのシグナル伝達を引き起こす、特異性決定要素を利用するサイトカインに対するアンタゴニストを、本発明の方法を使用して製造できる。このような分子は文献に記載されている(例えば、米国特許6,927,044号参照)。一例において、受容体の可溶性特異性決定要素およびサイトカイン受容体の第一シグナル伝達要素の細胞外ドメインを組み合わせ、非機能的複合体を形成するようにサイトカインに結合するヘテロ二量体を形成する。このようなヘテロ二量体受容体を使用して阻害できる例示的サイトカインは、IL1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-3、IL-4、IL-5、IL-11、IL-15、GMCSF、LIF、INF およびTGFを含む。

20

30

【0215】

III.D. ポリヌクレオチドを含む分子

本発明の分子はまたポリヌクレオチド(例えば、オリゴマー)を含み得る。ある態様において、ヌクレオチド配列は、上のセクションIII.A、III.BおよびIII.C.1-III.C.5に記載のいずれかのポリペプチドをコードする。ある態様において、ヌクレオチド配列は、上のセクションIII.A、III.BおよびIII.C.1-III.C.5に開示した1以上のポリペプチドをコードする核酸配列(DNAまたはRNA、例えば、前mRNAまたはmRNA)と結合するまたはハイブリダイズする。ここでの用語“ヌクレオチド配列”は、2を超えるヌクレオチドが、配列として互いに連結している分子を意味する。ある態様において、本発明のヌクレオチド配列はDNAである。他の態様において、本発明のヌクレオチド配列はRNAである。他の態様において、本発明のヌクレオチド配列は、DNAとRNAの組み合わせである。さらなる他の態様において、本発明のヌクレオチド配列は、1以上の化学修飾ヌクレオチドを含む。さらに他の態様において、ヌクレオチド配列は、少なくとも2ヌクレオチド、少なくとも3ヌクレオチド、少なくとも4ヌクレオチド、少なくとも5ヌクレオチド、少なくとも6ヌクレオチド、少なくとも7ヌクレオチド、少なくとも8ヌクレオチド、少なくとも9ヌクレオチド、少なくとも10ヌクレオチドまたは少なくとも11ヌクレオチド長を含む。他の態様において、ヌクレオチド配列は、少なくとも15ヌクレオチド、少なくとも20ヌクレオチド、少なくとも25ヌクレオチド、少なくとも30ヌクレオチド、少なくとも35ヌクレオチド、少なくとも40ヌクレオチド、少

40

50

なくとも45ヌクレオチド、少なくとも50ヌクレオチド、少なくとも55ヌクレオチド、少なくとも60ヌクレオチド、少なくとも65ヌクレオチド、少なくとも70ヌクレオチド、少なくとも80ヌクレオチド、少なくとも90ヌクレオチド、少なくとも100ヌクレオチド、少なくとも150ヌクレオチド、少なくとも200ヌクレオチド、少なくとも300ヌクレオチド、少なくとも400ヌクレオチド、少なくとも500ヌクレオチド、少なくとも600ヌクレオチド、少なくとも700ヌクレオチド、少なくとも800ヌクレオチド、少なくとも900ヌクレオチド、少なくとも1000ヌクレオチド、少なくとも2000ヌクレオチド、少なくとも3000ヌクレオチドまたは少なくとも4000ヌクレオチドを含む。この点について、本発明のヌクレオチド配列は、一般に、哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞、例えば、神経細胞における、mRNAレベルの減少を経て、タンパク質の間接的阻害に影響し得る。あらゆるタイプのヌクレオチド配列を、本発明の方法を使用して分析できる。ある態様において、タンパク質として神経細胞において主に発現される前mRNAまたはmRNAを標的とするヌクレオチド配列を、ここに記載した特徴の選択のために分析する。本発明の方法により選択されたヌクレオチド配列により標的化され得る遺伝子の例は、微小管関連タンパク質タウ(MAPT遺伝子によりコード)、脳酸可溶性タンパク質1(BASP1遺伝子によりコード)またはアミロイド前駆体タンパク質(APP遺伝子によりコード)を含むが、これらに限定されない。ある態様において、本方法のヌクレオチド配列はオリゴマーである。

10

【0216】

III. D. 1. オリゴマー(アンチセンスオリゴヌクレオチド)

20

ある態様において、治療本発明で有用な分子はオリゴマーである。オリゴマーは、10~50ヌクレオチド配列、例えば、計10~30ヌクレオチドの連続ヌクレオチド配列を含む10~30ヌクレオチド長を有する。

【0217】

ある態様において、オリゴマーは、微小管関連タンパク質タウ(MAPT)を標的とする。疾患と関連する病的状態において、MAPTは神経原線維変化タンパク質または対らせん状細線維-タウ(PHF-タウ)としても知られる。MAPT遺伝子の配列は、公的に利用可能なAccession Number NC_000017.11に見ることができ、MAPT前mRNAトランスクリプトの配列は、公的に利用可能なAccession Number NG_007398に見ることができる。タウ・タンパク質の配列は、公的に利用可能なAccession Number P10636、P18518、Q14799、Q15549、Q15550、Q15551、Q1RMF6、Q53YB1、Q5CZ17、Q5XWF0、Q6QT54、Q9UDJ3、Q9UMH0、Q9UQ96に見ることができ、この各々を、その全体を引用により本明細書に包含させる。MAPT遺伝子産物の天然バリエーションが知られる。例えば、タウ・タンパク質の天然バリエーションは、R5H、R5L、D285N、V289A、K574T、L583V、G589V、N596K、N613H、P618L、P618S、G620V、S622N、K634M、S637F、V654M、E659V、K686I、G706R、R723Wまたは任意のこれらの組み合わせから選択される1以上アミノ酸置換を含み得る。それゆえに、本発明のオリゴマーは、タウ・タンパク質の天然バリエーションの発現を低減または阻害するように設計できる。タウ・タンパク質配列は配列番号1として提供され、ヌクレオチド配列は配列番号2として提供される。

30

40

【0218】

ある態様において、オリゴマーは、脳酸可溶性タンパク質1(BASP1)をコードする前mRNAまたはmRNAを標的とする。BASP1はまた、22kDa神経組織富酸性タンパク質、神経軸索膜タンパク質NAP-22、NAP22、CAP-23、NAP-22、CAP23または神経組織富酸性タンパク質としても知られる。BASP1遺伝子は、数個の一過性リン酸化部位およびPESTモチーフを伴う、膜結合タンパク質をコードする。種々の種にわたるPEST配列を有するタンパク質の保存は、その機能的な重要性を支持する。PEST配列は、一般に高回転率のタンパク質で生じる。このタンパク質の免疫学的特徴は、種特異的である。このタンパク質はまた、N末端ミリスチル化も受ける。

50

【0219】

オリゴマーの標的核酸配列の他の例は、BASP1前mRNAまたはBASP1 mRNAである。BASP1 mRNAに対応するBASP1 cDNAは、GenBank Accession No. NM_006317.4として知られる。

【0220】

ある態様において、治療用分子(例えば、オリゴマー)は、アミロイド前駆体タンパク質をコードする前mRNAを標的とする。アミロイド前駆体タンパク質(APP)は、多くの組織で発現され、ニューロンのシナプスで濃縮される複合膜タンパク質である。その機能は、シナプス形成、神経可塑性および鉄排出のレギュレーターに關与するとされている。APPは前駆体分子として最もよく知られており、そのタンパク質分解が、アミロイド原線維形態がアルツハイマー病患者脳で見られるアミロイドブラークの主成分であるベータアミロイド(A_β)、37~49アミノ酸ペプチドを産生する。

10

【0221】

ヒトにおいて、APPの遺伝子は21番染色体に存在し、290キロベースに及ぶ18エクソンを含む。APPの別の選択的スプライシングアイソフォームがヒトで観察されており、365~770アミノ酸長の範囲であり、あるアイソフォームがニューロンで優先的に発現される；これらのアイソフォームの神経細胞での比率の変化が、アルツハイマー病と関連している。アミロイドベータ(A_β)を産生する領域を含む、アミロイド前駆体タンパク質の重要な領域における変異が、アルツハイマー病に対する家族性感受性の原因である。例えば、家族性アルツハイマーと関連するA_β領域外の数変異が、A_βの産生を劇的に増加させることが判明している。

20

【0222】

オリゴマーの標的核酸配列のさらなる例は、APP前mRNAまたはAPP mRNAである。APP mRNAに対応するAPPは、GenBank Accession No. Y00264として知られる。

【0223】

ある態様において、本方法は、MAPTトランスクリプト、例えば、配列番号2(配列番号2は、“t”を“u”に置き換えたならば、mRNAであり得る)、BASP1トランスクリプトまたはAPPトランスクリプト内の領域とハイブリダイズするヌクレオチド配列(例えば、オリゴマー)を含むあらゆる治療用分子の選択に利用される。

30

【0224】

ある態様において、MAPT、BASP1またはAPPをコードする前mRNAまたはmRNAのある領域を標的とするヌクレオチド配列(例えば、オリゴマー)を含む無作為治療用分子を、毒性試験のために調製する。ヌクレオチド配列を含む治療用分子を、その後、ここでの他の場所に記載する本発明の方法の対象とし得る。ある態様において、オリゴマー(すなわち、アンチセンスオリゴヌクレオチド)の例は、図4および5に挙げるオリゴマーを含むが、これらに限定されない。

【0225】

オリゴマーは、あらゆるオリゴマーデザイン、例えば、ヌクレオシド糖修飾のパターンを含む。ある態様において、オリゴマーは、少なくとも1修飾ヌクレオシド、例えば、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、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または少なくとも16修飾ヌクレオシドを含む。

40

【0226】

ある態様において、本発明のオリゴマーは、これらの3タイプの修飾(修飾糖、修飾核酸塩基および修飾ヌクレオシド間結合)またはそれらの組み合わせから独立して選択される、修飾を含む。

【0227】

さらなる態様において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも一つの修飾ヌクレオシド間

50

結合を含む。他の態様において、連続ヌクレオチド配列内のヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートまたはボラノホスフェートヌクレオシド間結合である。

【0228】

ある態様において、本発明のオリゴマーは、少なくとも一つのLNA単位または少なくとも一つの2'置換修飾ヌクレオシドを含む。

【0229】

本発明のオリゴマーは、ヌクレオチドおよびヌクレオチドアナログの両者を含むヌクレオチド配列を含んでよく、ギャップマー、ブロックマー、ミックスマー、ヘッドマー、テイルマーまたはトータルマーの形であり得る。本発明のオリゴマーで使用できるギャップマー、ブロックマー、ミックスマー、ヘッドマー、テイルマーまたはトータルマーの配置の例は、米国特許出願公開2012/0322851号に記載されている。

10

【0230】

本発明のオリゴマーのヌクレオチドまたはその連続的ヌクレオチド配列は、結合基を経て、一緒に連結され得る。好適には各ヌクレオチドが結合基を経て3'隣接ヌクレオチドに連結される。適当なヌクレオチド間結合は、WO2007/031091号内に記載のもの、例えば、WO2007/031091号の34頁、第一段落に挙げたヌクレオチド間結合を含む。

【0231】

2011年6月2日公開の米国公開番号2011/0130441号は、中性ヌクレオシド間結合により3'または5'末端に結合した少なくとも一つの二環式ヌクレオシドを有するオリゴマー化合物に言及する。本発明のオリゴマーは、それゆえに、1以上のホスホトリエステル、メチルホスホネート、MMI、アミド-3、ホルムアセタールまたはチオホルムアセタールのような、中性ヌクレオシド間結合により3'または5'末端に結合した少なくとも一つの二環式ヌクレオシドを有し得る。残りの結合はホスホロチオエートであり得る。

20

【0232】

この文脈において、用語“コンジュゲート”は、ここに記載のオリゴマーの、1以上の非ヌクレオチドまたは非ポリヌクレオチド部分への共有または非共有結合(“コンジュゲーション”)により形成された異種性分子をいう。非ヌクレオチドまたは非ポリヌクレオチド部分の例は、タンパク質、脂肪酸鎖、糖残基、糖タンパク質、ポリマーまたはこれらの組み合わせのような巨大分子薬剤を含む。一般にタンパク質は、標的タンパク質に対する抗体である。ある態様において、典型的ポリマーは、ポリエチレングリコールである。

30

【0233】

それゆえに、種々の態様において、本発明のオリゴマーは、一般にヌクレオチドの連続配列からなるポリヌクレオチド領域およびさらに非ヌクレオチド領域の両者を含む。連続ヌクレオチド配列を含む本発明のオリゴマーに言及するとき、化合物は、コンジュゲート要素のような非ヌクレオチド要素を含み得る。

【0234】

本発明はまた、ここに記載する本発明のオリゴマーと、該オリゴマーに共有結合する少なくとも一つの非ヌクレオチドまたは非ポリヌクレオチド部分を含む、コンジュゲートも提供する。それゆえに、開示するように、本発明のオリゴマーが特定の核酸またはヌクレオチド配列を含む種々の態様において、化合物はまた、該オリゴマーに共有結合した少なくとも一つの非ヌクレオチドまたは非ポリヌクレオチド部分(例えば、1以上ヌクレオチドまたはヌクレオチドアナログを含む)も含み得る。

40

【0235】

(コンジュゲート部分への)コンジュゲーションは、本発明のオリゴマーの活性、細胞分布または細胞取り込みを増強できる。このような部分は、抗体、ポリペプチド、コレステロール部分のような脂質部分、コール酸、チオエーテルを含むが、これらに限定されない。

【0236】

50

本発明のオリゴマーはまた、活性医薬物質、例えば、アスピリン、イブプロフェン、サルファ剤、抗糖尿病性、抗細菌または抗生物質にもコンジュゲートされ得る。

【0237】

ある態様において、コンジュゲート部分は、コレステロールのようなステロールである。

【0238】

IV. 医薬組成物および投与経路

本発明の治療用分子を、医薬製剤および組成物において使用できる。好適には、このような組成物は薬学的に許容される希釈剤、担体、塩またはアジュバントを含む。

【0239】

本発明の治療用分子は、処置患者に重篤な副作用を引き起こすことなく、治療有効量を患者に送達するのに十分な量で、薬学的に許容される担体または希釈剤中のような、単位製剤に包含され得る。しかしながら、治療のある形態において、重篤な副作用は、治療処置の前向きな結果を確実にする点から、許容され得る。

【0240】

製剤薬物は、薬学的に許容される結合剤およびアジュバントを含み得る。カプセル剤、錠剤または丸剤は、例えば次の化合物を含み得る：結合剤として微結晶セルロース、ガムまたはゼラチン；添加物としてデンプンまたはラクトース；滑沢剤としてステアレート；種々の甘味剤または風味剤。カプセル剤について、用量単位は、脂肪油のような液体担体を含み得る。同様に、糖または腸溶性薬剤でのコーティングは、用量単位の一部であり得る。治療用分子製剤は、活性医薬成分とミセルエマルジョン形成脂質のエマルジョンでもあり得る。

【0241】

本発明の医薬組成物は、局所または全身のいずれの処置が望まれるかおよび処置すべき領域によって、多数の方法で投与できる。投与は、(a)経口、(b)例えば、ネブライザーによるものを含む粉末またはエアロゾルの吸入または吹送(insufflation)による肺；気管内、鼻腔内、(c)上皮、経皮、眼および膈および直腸送達を含む粘膜へを含む、局所；または(d)静脈内、動脈内、皮下、腹腔内または筋肉内注射または点滴；または頭蓋内、例えば、髄腔内、側脳室内または脳室内投与を含む非経腸であり得る。ある態様において、治療用分子をIV、IP、経口、局所またはポラス注射として投与するかまたは標的臓器に直接投与する。他の態様において、治療用分子を、ポラス注射として髄腔内または側脳室内に投与する。

【0242】

局所投与用医薬組成物および製剤は、経皮パッチ剤、軟膏剤、ローション剤、クリーム剤、ゲル剤、滴剤、スプレー剤、坐薬、液剤および散剤を含む。慣用の医薬担体、水性、粉末または油性基剤、濃厚剤などが必要であるかまたは望ましいかもしれない。局所製剤の例は、本発明のオリゴマーが、脂質、リポソーム、脂肪酸、脂肪酸エステル、ステロイド、キレート剤および界面活性剤のような局所送達剤と混合されているものを含む。経口投与用組成物および製剤は、散剤または顆粒剤、微粒子剤、ナノ粒子剤、水または非水性媒体中の懸濁液剤または溶液剤、カプセル剤、ゲルカプセル剤、サシェ剤、錠剤またはミニ錠剤を含むが、これらに限定されない。非経腸、髄腔内、側脳室内または脳室内投与用組成物および製剤は、緩衝液、希釈剤および、浸透増強剤、担体化合物および他の薬学的に許容される担体または添加物のような、しかしこれらに限定されない他の適当なも含み得る、無菌水溶液を含み得る。

【0243】

本発明の医薬組成物は、溶液、エマルジョンおよびリポソーム含有製剤を含む。これらの組成物は、予め形成された液体、自己乳化固体および自己乳化半固体を含むが、これらに限定されない多様な要素から産生され得る。標的組織への薬物の送達は、カチオン性リポソーム、シクロデキストリン、ポルフィリン誘導體、分枝鎖デンドリマー、ポリエチレンイミンポリマー、ナノ粒子およびマイクロスフェアを含むが、これらに限定されない担

10

20

30

40

50

体介在送達により増強され得る(Dass CR. J Pharm Pharmacol 2002;54(1):3-27)。

【0244】

好都合には単位剤形で提示され得る本発明の医薬製剤は、医薬品産業で周知の慣用の技術により製造できる。このような技術は、活性成分と医薬担体または添加物を関連させる工程を含む。一般に、製剤は、活性成分と、液体担体または必要であれば固体担体または両者を均一かつ親密に関連させ、次いで、製品を形作ることにより製造する。

【0245】

非経腸、皮下、皮内または局所投与のために、製剤は、無菌希釈剤、緩衝液、張性制御剤および抗菌剤を含み得る。治療用分子は、制御放出性質を有するインプラントまたはマイクロカプセルを含む、分解または即時の身体からの排泄に対して保護する担体を用いて製造できる。静脈内投与用に、担体は生理学的食塩水またはリン酸緩衝化食塩水であり得る。国際公開番号WO 2007/031091(A2)号(2007年3月22日公開)は、適当な薬学的に許容される希釈剤、担体およびアジュバントをさらに提供する。

10

【0246】

本発明の実施は、特に断らない限り、当業者の技術の範囲内である、細胞生物学、細胞培養、分子生物学、トランスジェニック生物学、微生物学、組み換えDNAおよび免疫学の慣用の技術を用いる。このような技術は、文献に十分に説明されている。例えば、Sambrook et al., ed. (1989) *Molecular Cloning A Laboratory Manual* (2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press); Sambrook et al., ed. (1992) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, (Cold Springs Harbor Laboratory, NY); D. N. Glover ed., (1985) *DNA Cloning, Volumes I and II*; Gait, ed. (1984) *Oligonucleotide Synthesis*; Mullis et al. U.S. Pat. No. 4,683,195; Hames and Higgins, eds. (1984) *Nucleic Acid Hybridization*; Hames and Higgins, eds. (1984) *Transcription And Translation*; Freshney (1987) *Culture Of Animal Cells* (Alan R. Liss, Inc.); *Immobilized Cells And Enzymes* (IRL Press) (1986); Perbal (1984) *A Practical Guide To Molecular Cloning; the treatise, Methods In Enzymology* (Academic Press, Inc., N.Y.); Miller and Calos eds. (1987) *Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells*, (Cold Spring Harbor Laboratory); Wu et al., eds., *Methods In Enzymology, Vols. 154 and 155*; Mayer and Walker, eds. (1987) *Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology* (Academic Press, London); Weir and Blackwell, eds., (1986) *Handbook Of Experimental Immunology, Volumes I-IV; Manipulating the Mouse Embryo*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., (1986); Crooks, *Antisense drug Technology: Principles, strategies and applications*, 2nd Ed. CRC Press (2007)およびAusubel et al. (1989) *Current Protocols in Molecular Biology* (John Wiley and Sons, Baltimore, Md.)参照。

20

30

【0247】

上記の引用文献ならびにここに引用する全ての文献は、引用によりその全体を本明細書に包含させる。

【0248】

次の実施例は、説明の目的で提供するものであり、限定の目的ではない。

40

【実施例】

【0249】

実施例1：分子の構築

多数の分子(例えば、オリゴマー)を、MAPT前mRNAの3'UTRを標的とするように設計する。例えば、オリゴマーを、配列番号2のヌクレオチド134,821~138,940および72,802~73,072を標的とするように構築した。オリゴマーの例示的配列を図4、5および6に記載する。ある態様において、オリゴマーを、ギャップマーまたはミックスマーであるように設計した。同じ方法を、個々に開示する任意の他の配列に適用できる。ギャップマーを、LNA(大文字)、例えば、ベータ-デオキシLNAを5'末端および3'末端に含み、ホスホロチオエート主鎖を含むように構築したが、L

50

NAを任意の他のヌクレオチドアナログに置換してよく、主鎖は他のタイプの主鎖(例えば、ホスホジエステル結合、ホスホトリエステル結合、メチルホスホネート結合、ホスホロアミデート結合またはこれらの組み合わせ)であってよい。

【0250】

オリゴマーを、当分野で周知の方法を使用して合成した。このようなオリゴマーの製造法例は、Barciszewski et al., Chapter 10 - "Locked Nucleic Acid Aptamers" in Nucleic Acid and Peptide Aptamers: Methods and Protocols, vol. 535, Gunter Mayer (ed.) (2009)に記載される。

【0251】

実施例2：アンチセンスオリゴヌクレオチドの自発的カルシウム振動測定

初代皮質ニューロン自発的カルシウム振動を測定するために、ラット初代皮質ニューロンを、Sprague-Dawleyラット胚(E19)から調製した。細胞を、25,000細胞/ウェルで、384ウェルポリ-D-リシン被覆FLIPRプレート(Greiner Bio-One)に、B27添加物および2mM グルタミン含有25 μ l/ウェル神経基本培地にプレATINGした(インビトロ1日目、DIV1)。細胞を、11日間、37 $^{\circ}$ C、5%CO₂で増殖させ、25 μ lのさらなる培地を、インビトロ11日目("DIV11")の使用のために、インビトロ4日目("DIV04")およびインビトロ8日目("DIV08")に供給した。実験の日、培地をプレートから除去し、細胞を、50 μ l/ウェルの37 $^{\circ}$ Cアッセイ緩衝液(2mM CaCl₂および10mM HEPES添加ハクス平衡塩類溶液pH7.4)で1回洗浄した。振動を、1mM MgCl₂存在下および非存在下で試験した(図1)。細胞に、細胞持続性蛍光カルシウム色素、fluo-4 AM(Life Technologies)を充填した。fluo-4 AMを、20%プルロニックF-127含有DMSO中、2.5mmで調製し、次いでアッセイ緩衝液で1:1000希釈した。細胞を、1時間、20 μ lの2.5 μ M fluo-4 AMと、37 $^{\circ}$ Cで5%CO₂中インキュベートした。1時間後、20 μ lの室温アッセイ緩衝液を添加し、細胞を室温でさらに10分平衡化させ、蛍光イメージングプレート読取装置(FLIPR)に入れた。ベースラインシグナル(細胞内カルシウムの測定)を、100秒(1読み取り/秒)で読み、その後アンチセンスオリゴマーを添加した。オリゴマーを、75 μ Mで20 μ lのアッセイ緩衝液中、FLIPR内の384ウェルヘッドに添加して、最終濃度25 μ Mとした。オリゴマー添加後、FLIPRシグナルをさらに200秒(1読み取り/秒)読んだ。FLIPRの1秒での5分添加後プレート読み取り(300の1秒点)を実施して、さらなるデータ捕捉を可能とした。5分読み取りからの生データをエクスポートし、Excelを使用して、スパイク振幅および頻度を計算した。計算を、対照(非処理)ウェルに対する300秒読み取りにわたる平均FLIPRシグナルの測定により実施した。処理ウェルについて、シグナルが平均対照値の50%を超えて増加するところである各1秒読み取りにスコア1を与える、スコアリング・システムを開発した(上で計算)。スコア0を、平均対照値の50%未満の増加である各1秒読み取りに与えた。各処理について、総スコアを計算し、グラフ化目的で対照%に変換した。アンチセンスオリゴマーが、非処理細胞より大きなカルシウム振動応答を産生するならば、対照のパーセントが、100%より大きいとして表される(図4)。

【0252】

初代神経細胞自発的カルシウム振動に対するオリゴマーの効果を、先に記載のとおり2条件、1mM MgCl₂存在下および非存在下、測定した(Murphy et al., 1992, J. Neurosci. 12:4834-4845)。これを、N-メチル-D-アスパルテート(NMDA)および-D-アミノ-3-ヒドロキシ-5-メチル-4-イソキサゾールプロピオン酸(AMPA)-受容体介在カルシウム振動の単離のために実施した。図1に示すデータは、AMPA受容体アンタゴニスト、6-シアノ-7-ニトロキノキサリン-2,3-ジオン(CNQX; 3 μ M)の添加は、アッセイにおける総AMPA応答で表して、20%カルシウム振動を低減させることを示した(図1 AMPAと標識したバーにより示す)。カルシウム振動は、(NMDA)受容体機能を1mM MgCl₂で遮断したとき、さらに、約80%まで低減された(図1 NMDAと標識したバーにより示す)。

【 0 2 5 3 】

NMDAまたはAMPA介在自発的カルシウム振動のアンチセンスオリゴマー阻害を、1mM MgCl₂の存在下または非存在下に評価した(いずれの場合も100%対照を表す; 図2)。25μMアンチセンスオリゴマー(ASO)はAMPA受容体を阻害したが、NMDA受容体介在振動はしなかった(図2)。ASOおよび類似に行動する他のオリゴマーは、インビボで中枢神経系(CNS)ネットワーク活性およびインビトロで電気生理的自発的神経活性に負に作用することが示された(データは示していない)。初代神経細胞における自発的カルシウム振動に対するタウ・アンチセンスオリゴヌクレオチド影響を図4に要約する。Murphy et al., J. Neurosci. 12, 4834 - 4845 (1992)参照。

【 0 2 5 4 】

神経細胞におけるカルシウム振動低減を本発明のオリゴマーについて測定し、対照細胞(すなわち、オリゴマーで処理されていない神経細胞におけるカルシウム振動)と比較した。初代神経細胞における自発的カルシウム振動に対する。タウ・アンチセンスオリゴヌクレオチド影響を図4に示す。非処理対照細胞におけるカルシウム振動の75%以上であるAMPA介在振動を示す神経細胞におけるオリゴマーを、さらなる分析のために選択した。

【 0 2 5 5 】

実施例3：小分子を使用するカルシウム振動測定

カルシウム振動に対する小分子の効果を、実施例2に提供したのと実質的に同じ方法を使用して測定する。初代皮質ニューロン自発的カルシウム振動を測定するために、ラット初代皮質ニューロンを調製する。細胞をプレーティングし、適当な日数、使用のために増殖させる。実施例2に記載するとおり、初代神経細胞自発的カルシウム振動に対する小分子の効果を、先に記載のとおり2条件、1mM MgCl₂存在下および非存在下で測定する(Murphy et al., 1992, J. Neurosci. 12:4834-4845)。細胞に細胞持続性蛍光カルシウム色素を充填する。細胞をインキュベートし、蛍光強度測定のために室温で平衡化させる。生データをエクスポートし、スパイク振幅および頻度を計算する。

【 0 2 5 6 】

NMDAまたはAMPA介在自発的カルシウム振動の小分子阻害を評価する。小分子の添加はAMPA受容体介在振動を阻害する。対照の70%未満のレベルまでカルシウム振動を低減させる小分子は、インビボでのCNS回路網活性およびインビトロでの電気生理的自発的神経活性に負に影響すると予測される。

【 0 2 5 7 】

実施例4：治療タンパク質を使用するカルシウム振動測定

カルシウム振動に対する、抗体またはその抗原結合フラグメント、融合タンパク質、サイトカイン、細胞表面受容体、ホルモンまたは増殖因子のような治療タンパク質の効果を、実施例2に提供したのと実質的に同じ方法を使用して測定する。初代皮質神経細胞自発的カルシウム振動を測定するために、ラット初代皮質神経細胞を調製する。細胞をプレーティングし、適当な日数、使用のために増殖させる。実施例2に記載するとおり、初代神経細胞自発的カルシウム振動に対する治療タンパク質の効果を、先に記載のとおり2条件、1mM MgCl₂存在下および非存在下で測定する(Murphy et al., 1992, J. Neurosci. 12:4834-4845)。細胞に細胞持続性蛍光カルシウム色素を充填する。細胞をインキュベートし、蛍光強度測定のために室温で平衡化させる。生データをエクスポートし、スパイク振幅および頻度を計算する。

【 0 2 5 8 】

NMDAまたはAMPA介在自発的カルシウム振動の治療タンパク質阻害を評価する。治療タンパク質添加はAMPA受容体介在振動を阻害する。対照の70%未満のレベルまでカルシウム振動を低減させる治療タンパク質は、インビボでのCNS回路網活性およびインビトロでの電気生理的自発的神経活性に負に影響すると予測される。

【 0 2 5 9 】

実施例5：配列スコア計算

10

20

30

40

50

各オリゴマーの配列スコアを、オリゴマーの適性を予測するために計算した。配列スコアは、全オリゴマーについて決定された数学的計算であり、あるオリゴマー配列内のGおよびCヌクレオチドまたはそのアナログの%に基づく。次の式を、配列スコアの計算のために全オリゴマーに適用した。

【数14】

$$\frac{C \text{ヌクレオチドまたはそのアナログの数} - G \text{ヌクレオチドまたはそのアナログの数}}{\text{ヌクレオチド長}} \quad (1)$$

【0260】

計算例を、オリゴマーASO-000013(配列番号686;配列スコア0.25)について示す: ATTtccaaattcaCTT: 4-0/16 = 配列スコア0.25。 10

【0261】

選択したオリゴマーの配列スコアを、さらなる試験のために計算した。配列スコアのカットオフ値決定のために、インビボ耐容性試験を、実施例6に示すとおり実施した。

【0262】

実施例6: インビボ耐容性

オリゴマーのインビボ耐容性を、オリゴマーが動物に注射されたときどの程度態様されるかを見ることにより試験した。

【0263】

対象 20

オリゴマーのインビボ耐容性を、マウスおよびラットで試験した。TaqPCRおよび行動試験用の動物は、成熟C57Bl/6J雌マウス(20~30g; Jackson Laboratories, Bar Harbor, ME)であり、ケージあたり3~4匹で飼育した。動物を、一定温度(21±2)および湿度(50±10%)に維持し、1日12時間明るい(0600時に点灯)飼育室に維持した。いくつかの例で、タウプロモーターにより駆動されるH1ハプロタイプ(Polydoro et al., J. Neurosci. (2009) 29(34): 10741-9)であるヒトPAC由来タウ導入遺伝子を発現し、天然マウスタウ遺伝子が欠失された、雄および雌トランスジェニックマウス(30~40g)を、薬力学的エンドポイントおよび組織薬物濃度評価に使用した。髄腔内点滴試験について、雌Sprague-Dawleyラット(試験時180~225g; Harlan)を、一定温度(21±2)および湿度(50±10%)に維持し、1日12時間明るい(0600時に点灯)飼育室に一匹ずつ飼育した。全ての動物は、試験中餌および水を自由に摂取していた。行動試験を、0700時~1500時の間に実施した。動物を、プリストル-マイヤーズ スクイブ カンパニー動物実験委員会のガイドラインおよびアメリカ国立衛生研究所発行の“Guide for Care and Use of Laboratory Animals”に従い扱った。実験プロトコルは、プリストル-マイヤーズ スクイブ カンパニー動物実験委員会により承認された。 30

【0264】

投与経路 - 側脳室内または髄腔内注射

オリゴマーを、側脳室内(i.c.v.)注射または髄腔内注射によりマウスに投与した。側脳室内注射は、HaleyおよびMcCormickの方法に従い、27ゲージまたは30ゲージ針を付けたHamiltonマイクロシリンジを使用して実施した。針に、脳への穿通を制限するために、先端から2.5mmの所にポリエチレンガードを付けた。マウスをイソフルラン麻酔剤(1.5~4%)を使用して麻酔した。20~30g体重の注射するマウスを、首の後のたるんだ皮膚を、片手の親指と人差し指で持った。その後、穏やかな、しかし、確かな圧をかけて、動物の頭を堅い平らな表面に押しつけることにより固定した。次いで、針先端を頭皮および頭蓋を通して、前頂から約1mm外側かつ1mm尾側に挿入した。針を設置したら、アンチセンスオリゴヌクレオチドを、食塩水媒体中5μl体積で与え、右(または左)側脳室に20~30秒かけて注射した。針を、抜く前10秒その場に置いた。この手技は、外科手術または切開を必要としなかった。動物を、この手技から回復するまで、加温パッドの上で温めた。投薬後、例えば、投薬後1週間~16週間の複数の時点で、それぞれ薬物 40 50

濃度分析およびタウqPCRのために、脳組織(右、前頭野領域)をドライアイス上にまたはRNAlaterに集めた。

【0265】

マウスの髄腔内(IT)注射のために、動物を軽いイソフルラン麻酔(1.5~5%)下に維持した。マウスを、骨盤帯により片手でしっかりと持ち、Hamiltonシリンジに接続した30G 1/2インチ針を、L5とL6の間の背側面の組織に、脊柱に垂直に注入した。針がクモ膜下空間に入ったとき、尾の突然の側方移動が観察された。この反射を、IT投与のための針の設置の成功の指標として使用した。5~10 μ L体積のアチセンスオリゴヌクレオチドを、クモ膜下空間にゆっくり注射した(約60秒かけて)。

【0266】

ラットにおける髄腔内注射のために、髄腔内カテーテルを、Yaksh and Rudy, *Physiol. Behav.* (1976) 17(6): 1031-6に記載の方法を使用して外科的にインプラントした。ラットを、ノーズコーンを介して維持したイソフルラン麻酔を用いて定位固定枠に載せた。皮膚切開を、ほぼ両耳をつなぐ線から始まり、正中線に沿って尾側に約3cm行った。頭蓋の後頭稜が付いている筋肉を、筋肉正中線の両側の約3mm外側切断した。リトラクタまたは鉗子を使用して、筋肉を尾側にはがし、頭蓋底部の大槽膜を露出させた。筋膜および組織を、膜から注意深く除いた。16~22ゲージ針の屈曲斜角末端を、大槽膜における1~2mm外側切開に使用した。滅菌ITカテーテル、ポリエチレン製チューブ(外径約1.3mmに伸びるPE10チューブ)を、切開部を通して入れ、片方の手で親指と人さし指で回しながら、他方の手を使用して尾の基部を脊髄が一直線になるように優しく引っ張りながら、クモ膜下空間を通して注意深く尾側に進めた。何らかの抵抗に遭遇したら、カテーテルをわずかに戻し、再びゆっくり進めた。カテーテルが望む領域まで進んだら、20 μ L滅菌食塩水を流し、頭側末端を、切開部から約1cmの皮膚に19ゲージ針を使用して通過させた。カテーテルをピンで蓋した。ラットに、手術後5日経口抗生物質を与えた。手術の少なくとも5日後、単回アチセンスオリゴヌクレオチド注射を水で希釈し、プログラム可能点滴ポンプ(Knopf)により、10~50 μ L体積を10 μ L/分の速度で送達した。5 μ Lの短い食塩水での洗い流しを、アチセンスオリゴヌクレオチド送達直前に行い、10 μ L食塩水での洗い流しを、10 μ L/分速度でのオリゴヌクレオチド送達直後に行い、カテーテルのデッドボリューム(6~7 μ L)をカバーした。20 μ L食塩水での洗い流しを、実験に使用するまで動物に1~2回/週でまた行った。

【0267】

急性耐容性行動性評価

アチセンスオリゴヌクレオチドICVまたはITの1回注射後1時間について、動物の行動的副作用を観察し、0(副作用無し)~20(屠殺せざるを得ない痙攣)のスケールで副作用の重症度を採点した。耐容性スケールを5神経神経行動学的カテゴリーに分けた: 1)活動亢進、2)活動低下および覚醒、3)運動機能障害/失調、4)体位および呼吸異常および5)振戦/痙攣。各カテゴリーを0~4のスケールで採点し、可能性のある最悪の総スコア20であった。動物を飼育ケージでの行動の変化について観察し、その後飼育ケージから握力および正向反射の測定を含むより詳細な観察のために移した。

【0268】

新奇物体認識

短期認識記憶を、新奇物体認識(NOR)課題を使用して測定した。NOR試験は、齧歯類が、馴染みのあるものよりも、新奇物体を探索する自発的行動に基づく(Dodart et. al., *Neuroreport* (1997) 8(5): 1173-8; Ennaceur and Delacour, *Behav. Brain Res.* (1988) 31(1):47-59)。訓練(T1)と試験(T2)セッションの間の1時間保持間隔後、訓練セッションで物体を覚えていたマウスは、試験セッションでの新奇物体への優先性を示す。これらの実験について、動物を3日間扱い、試験セッション前日にチャンパー(48cm x 38cm x 20cm)に慣らした。チャンパーはポリエチレン製であり、ビニールの床張り内張りされていた。試験日、動物を四角形試験チャンパーに入れ、2つの同一物質(7.6cm高 x 5.1cm幅)を15分訓練期間に探索させた。1時間後、マウスを10分試験セッ

10

20

30

40

50

シヨンのために試験チャンパーに戻し、この間は、訓練中に探索していた1物体および1新奇物体を用いた。訓練セッションと試験セッション間および被験間に物体を25%エタノールで徹底的に洗浄し、1日の終わりに弱い洗剤で再び洗浄した。物体探索は、動物の鼻がその物体を指したときのみ考慮した。探索を、ObjectScanトラッキングソフトウェア(Cleversys, Reston, VA)を使用して記録した。データを、物体の探索に費やした時間の%として記録する(すなわち、新奇時間/新奇+馴染み時間×100)。

【0269】

モリス水迷路

空間学習および記憶を、モリス水迷路アッセイに基づき評価した(Morris J. Neurosci. (1984) 11(1):47-60)。水迷路は、120cm直径のプールを指す。水を白色、非毒性ペンペラ絵の具を使用して不透明にした(20 ± 1)。プールを、異なる迷路外手がかりで囲んだ。

10

【0270】

隠れプラットフォーム訓練前に、全てのマウスを水迷路プールに曝して、2回の前訓練試行中、四角形の溝を泳がせた。逃避プラットフォームを溝の中央に置いた。マウスが60秒試験中に該プラットフォームを見つけ、登ることができなければ、そこに導き、10秒まで座らせた。前訓練後、マウスは隠れプラットフォーム訓練を経験し、その間、10×10cmプラットフォームを表面の1.5cm下に浸した。プラットフォーム位置は、訓練の間中同じままにし、一方、4日の日々の試験ならびに4日間の訓練をとおして、落とす位置は無作為に変えた。マウスは、連続4日間、1日あたり2セッションを受けた。各セッションは、10分試験間隔の2試験を受けた。試験あたり可能な最大時間は60秒であった。マウスがプラットフォームを見つけるかまたは登ることができなかったならば、実験者がプラットフォームに導いた。全てのマウスは、各訓練試験後、10秒プラットフォームに座らせた。

20

【0271】

プローブ試験について、プラットフォームを除き、各マウスを60秒泳がせた。プローブ試験で落とした位置は、隠れプラットフォーム訓練中使用したプラットフォーム位置から180°であった。60秒後、マウスは、プールから出ず前に、プラットフォーム位置に導かれた。早期記憶回復のために、マウスを、最後の隠れプラットフォーム訓練2時間後、調査した；長期記憶想起を、最後の隠れプラットフォーム訓練16時間後に評価した。16時間プローブ試験2時間後、全てのマウスは可視プラットフォーム訓練を受け、ここで、局所的手がかり(プールはレゴを使用して構築)を隠れプラットフォーム上に置いた。マウスは、2回の訓練試験を受けた。全ての行動をビデオトラッキングシステム(Cleversys Inc.)を使用して記録した。逃避潜時、移動距離、泳いだ経路、泳いだ速度およびプラットフォーム横断を、続く分析のために自動で記録した。

30

【0272】

キャットウォーク

キャットウォーク(Noldus, Netherlands)は、複数の静的および動的歩行パラメータの客観的定量化を可能にする自動化およびコンピューター化歩行分析技術である。マウスをキャットウォークの一端に置き、3分または5回の遵守試験を受けるかのいずれか早いほうまで、自由に探索させた。データをエクスポートし、キャットウォークソフトウェアを使用して分類した。分類した試験の平均をデータ分析に使用した。目的の尺度は、プリント位置後または足の位置と、先の同側前足の設置の間の距離、初期および終点の2つのスタンス、足揺れ速度および足形または一步の間に足がガラスプレートに接する時間を含むが、これらに限定されない。

40

【0273】

行動性統計学

全行動試験の統計的分析を、GraphPad Prism(GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA)を使用して実施した。NORについて、データを、群内分析のための対応のあるt検定を使用して、または、群間分析のためのANOVAと続くダネット事後検定により分析。

50

MWMについて、反復MWM ANOVAを、取得段階の分析に使用し、一元配置分散分析と続くダネット事後を、プロブテスト分析に使用した。

【0274】

結果

上記アッセイに基づき決定したオリゴマーのインビボ急性耐容性を図5に示す。100 µgのオリゴマーICV注射後のインビボ累積的耐容性閾値を4と設定する。

【0275】

さらに、各オリゴマーの配列スコアとオリゴマーのインビボ急性耐容性の相関を試験した。相関解析は、4より低いインビボ耐容性を有するオリゴマーは、0.2以上の配列スコアを有する傾向にあることを示す。図3参照。それゆえに、図3は、オリゴマーの配列スコアを、オリゴマーのインビボ耐容性の予測に使用できることを示す。

10

【0276】

実施例7：タウ・タンパク質のインビトロ低減

MAPTトランスクリプトの3'UTRを標的とするオリゴマーを、導入遺伝子含有バクミドとしてヒトMAPT遺伝子全体を発現するマウス初代神経細胞におけるタウ・タンパク質(C57-bl6 BAC-Tg hTau; Polydoro et. al., J. Neurosci. (2009) 29 (34): 10747-9)を減少させる能力について試験した。初代hTauマウス胚性前脳神経細胞培養物は、マウスタウをノックアウトしたため、内在性マウスタウを発現しない。初代神経細胞を、製造業者のプロトコルに従うパパイソ消化により産生した(Worthington Biochemical Corporation, LK0031050)。簡潔に言うと、前脳を、マウスMAPTヌルバックグラウンドで全ヒト微小管関連タンパク質タウ(MAPT)遺伝子を発現するhTauマウスE18 BAC-Tg胚から切断し、37°Cで30~45分、パパイソ/DNase/Aール平衡塩類溶液(EBSS)中でインキュベートした。細胞ペレットの粉碎および遠心分離後、プロテアーゼ阻害剤、ウシ血清アルブミン(BSA)およびDNase含有EBSSで反応を停止させた。細胞を粉碎し、2% B-27、100 µg/ml ペニシリン、85 µg/ml ストレプトマイシンおよび0.5 mM グルタミン添加Neurobasal(NB, Invitrogen)で洗浄した。細胞を、添加NB媒体中、15,000細胞/ウェルでポリ-D-リシン被覆96ウェル光学造影プレート(BD Biosciences)に播種した。

20

【0277】

ヒトMAPT遺伝子を発現する初代hTauマウス胚性前脳神経細胞培養物を得た後、培養物をオリゴマーで処理して、タウmRNAおよびタンパク質発現を阻害した。次いで、培養物を免疫細胞化学および造影に付して、阻害を測定した。プレーティング1日後(DIV1)、初代hTauマウス胚性前脳神経細胞培養物上の添加神経基底(NB)培地を除き、種々の濃度のLNAオリゴマーを含む添加NB培地に置き換えた。初代hTau神経細胞培養物を、プレーティング後13日(DIV13)までLNAオリゴマーと培養した。DIV13に、培養物を、カルシウムおよびマグネシウムを欠くダルベッコリン酸緩衝化食塩水(DPBS, Invitrogen)ですすぎ、4%パラホルムアルデヒド/4%スクロース/DPBSで15分固定した。培養物を濯ぎ、次いで、ブロックし、DPBS+0.1% Triton X-100(TX-100)および3%BSAで、1時間、室温で透過性処理した。培養物を濯ぎ、次いで、2時間、室温で、タウ・タンパク質、Invitrogen AHB0042を測定するための一次抗体1:500、Tau5抗体;および神経突起面積を測定するための1:500、TUJ-1抗体、Abcam ab41489と、DPBS+3%BSAおよび0.1%TX-100中でインキュベートした。培養物を濯ぎ、Hoeschst 33342核色素(1:800, Invitrogen)およびAlexaFluor蛍光-コンジュゲート二次抗体(Invitrogen, 1:500)と、DPBS+3%BSAおよび0.1%TX-100中、1時間、室温でインキュベートした。培養物を十分に洗浄し、造影までDPBSに保存した。造影を、Cellomics VTI自動化免疫蛍光造影システムを使用して実施した。簡潔には、非処理ウェルを使用して、各フルオロフォアチャネルの飽和レベルを70%に設定した。次いで、連続12画像を各ウェルから得て、合計蛍光強度および合計蛍光面積を、タウおよびTUJ-1タンパク質の両方について、Cellomics VTI SpotDetector(v

30

40

50

ersion 4)画像分析ソフトウェアを使用して計算した。オリゴマー処理に起因するタウ・タンパク質低減を評価するために、T a u 5 合計蛍光強度対 T u j - 1 合計蛍光面積比(タウ / T u j - 1)を各ウェルで作成し、全データを非処理ウェルの平均タウ / T u j - 1 比に対し正規化した。T u j - 1 強度は、各サンプルの内部標準として有用である。オリゴマー処理からの神経突起 / 神経細胞毒性を評価するために、各ウェルからの T u j - 1 合計蛍光面積を、非処理ウェルの平均 T u j - 1 合計蛍光面積に対して正規化した。各ウェルの核カウントも、L N A オリゴマー処理と関連する毒性の代替的指標として獲得した。データを平均 ± S . D . として表す。免疫細胞化学について、データ点は、トリプリケートでのウェル処理の平均 ± S . D . を表す。効力値を、広い濃度範囲の L N A オリゴマーで処理したウェルを使用して作成し、そこから得られた正規化タウ / T u j - 1 および T u j - 1 値を分析して、食塩水対照サンプルからの正規化値と比較した。分析を、それぞれ 1 0 0 % および 0 % の固定値で設定した最高値および最低値を用いる非線形回帰を使用して行っており、ここで、1 0 0 % 阻害は、対照サンプルと比較したシグナルの完全な低減を表す(図 3)。q P C R について、データを、一元配置分散分析とダネット多重比較検定を使用して分析し、食塩水および L N A オリゴマー処理群を比較した。統計学的有意を $p < 0.05$ の値と設定した。

10

【0278】

各オリゴマーによるタウ・タンパク質の低減を食塩水と比較した。食塩水と比較したタウ・タンパク質低減の結果を図 6 に示す。アンチセンスオリゴヌクレオチド処理ニューロンにおけるタウ・タンパク質レベルが対照細胞以上であるならば、阻害パーセントを 0 阻害として表す。存在するならば、' N . D . ' は ' 未確定 ' を示し、' T B D ' は ' 未定 ' を示す。

20

【0279】

実施例 8 : オリゴマー優先順位付け

選択したオリゴマーの性質を表 1 に示す。これらの基準を基に、あるオリゴマーをさらなるインビトロおよびインビボ用量応答試験に選択した。

【表 1】

表 1 : さらなる試験のためのオリゴマー優先順位付けに使用した基準の要約

アッセイ	優先順位付け基準
タウ・タンパク質低減	タウ・タンパク質(5 μ Mオリゴマー)の > 70%低減
カルシウム振動	カルシウム振動の < 25%低減
配列スコア	配列スコア ≥ 0.20

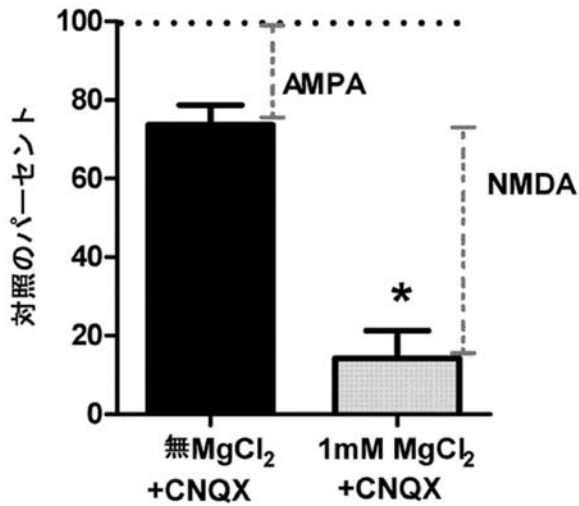
30

【0280】

他の態様において、オリゴマーは、次の特徴を基に選択できる：(1)タウ・タンパク質低減 タウ・タンパク質(5 μ Mオリゴマー)の > 30%低減；(2)カルシウム振動 カルシウム振動における < 25%低減；および(3)0.2以上の配列スコア。

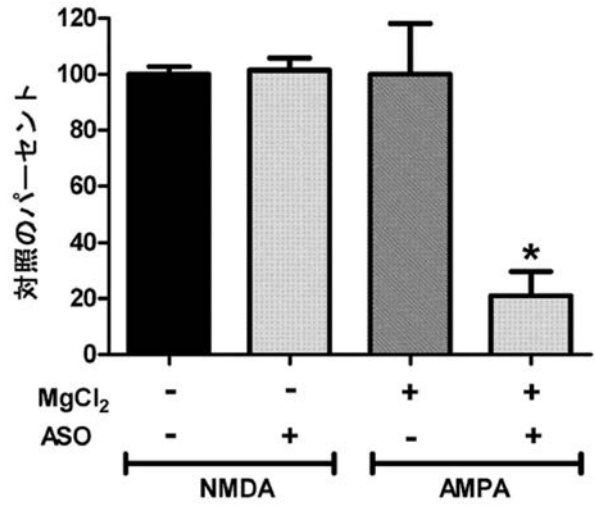
【 図 1 】

Figure 1



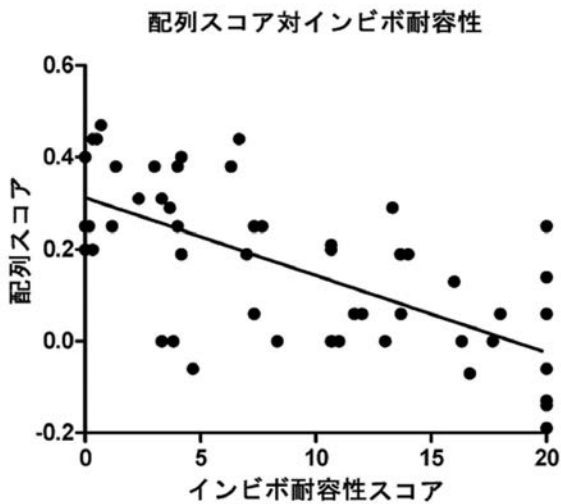
【 図 2 】

Figure 2



【 図 3 】

Figure 3



【 図 4 - 1 】

Figure 4

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前mRNA開始 NG_007398	前mRNA終了 NG_007398	塩基子クア対照%
ASO-001167	ASO-001167	AAAgatgaattgctCTTA	4	134947	134966	>100%
ASO-001168	ASO-001168	GAAagatgaattgctCTT	5	134948	134967	100%
ASO-001169	ASO-001169	GGAAgatgaattgctTCT	6	134949	134968	74%
ASO-000829	ASO-000829	AAGatgaattgCTC	7	134950	134965	>100%
ASO-001170	ASO-001170	TGGaaagatgaattgCTC	8	134950	134969	6%
ASO-001171	ASO-001171	TTGaaagatgaattGCT	9	134951	134970	1%
ASO-001172	ASO-001172	TTTgaaagatgaattGC	10	134952	134971	8%
ASO-001173	ASO-001173	ATTtggaaagatgaattTG	11	134953	134972	0%
ASO-001174	ASO-001174	AATtggaaagatgaaaTTT	12	134954	134973	0%
ASO-001175	ASO-001175	CAAttggaagatgaaATT	13	134955	134974	4%
ASO-001176	ASO-001176	TCAattggaagatgaaAAT	14	134956	134975	0%
ASO-001177	ASO-001177	ATCaattggaagatgAAA	15	134957	134976	10%
ASO-001178	ASO-001178	CATcaattggaagatGAA	16	134958	134977	62%
ASO-001181	ASO-001181	ACCatcaattggaagGAT	17	134961	134980	73%
ASO-001179	ASO-001179	CCatcaattggaagATGA	18	134959	134978	52%
ASO-001180	ASO-001180	CCCatcaattggaagATG	19	134960	134979	58%
ASO-001182	ASO-001182	CACcatcaattggaAGA	20	134962	134981	92%
ASO-001183	ASO-001183	CCAccatcaattggaAAG	21	134963	134982	58%
ASO-001184	ASO-001184	CCCaccatcaattggAAA	22	134964	134983	12%
ASO-001062	ASO-001062	GCCaccatcaattgGAA	23	134965	134984	1%
ASO-001063	ASO-001063	TAGccaccatcaattTGG	24	134967	134986	8%
ASO-001064	ASO-001064	CTAgccaccatcaattTG	25	134968	134987	0%
ASO-001065	ASO-001065	ACTagccaccatcaattTT	26	134969	134988	13%
ASO-001066	ASO-001066	TACTagccaccatcaATT	27	134970	134989	54%
ASO-000830	ASO-000830	TACTagccaccatcaATC	28	134974	134989	>100%
ASO-000260	ASO-000260	CCCctctacatGGA	29	135077	135092	
ASO-000305	ASO-000305	TGCctctgacaCCC	30	135171	135186	
ASO-000304	ASO-000304	TTCaatcttggTTG	31	135194	135209	

【 図 4 - 2 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_00739 8	前 mRNA 終了 NG_00739 8	振動データ 対照%
ASO-000324	ASO-000324	CACacaaggtgacAT	32	135242	135257	
ASO-000268	ASO-000268	CGTcacactcacaCAA	33	135251	135266	
ASO-000223	ASO-000223	GCcacaagggacAGC	34	135441	135456	
ASO-000224	ASO-000224	CAgcttctctctCTT	35	135533	135548	
ASO-000319	ASO-000319	ATCaagtcagctCTT	36	135585	135600	
ASO-000208	ASO-000208	CCtccagaactcaATA	37	135690	135705	
ASO-000689	ASO-000689	AAAgctccagctTGC	38	135737	135752	
ASO-000434	ASO-000434	CTAagctccagctTCT	39	135739	135754	59%
ASO-000409	ASO-000409	TAAagctccagctTCT	40	135739	135753	>100%
ASO-000432	ASO-000432	CTAagctccagctGTC	41	135740	135755	63%
ASO-000391	ASO-000391	TAAgctccagctGTC	42	135740	135753	72%
ASO-001779	ASO-001779	TAGcctaaagctccagGTC	43	135740	135759	54%
ASO-000899	ASO-000899	CTAagctccagctGTC	44	135740	135754	
ASO-000398	ASO-000398	CCtcaagctccagGTC	45	135741	135756	76%
ASO-001778	ASO-001778	TTAgcctaaagctccagGTC	46	135741	135760	86%
ASO-000414	ASO-000414	GCcacaagctccAGG	47	135742	135757	42%
ASO-000403	ASO-000403	CCtcaagctccAGG	48	135742	135756	72%
ASO-001780	ASO-001780	GTTAgcctaaagctccAGG	49	135742	135761	28%
ASO-000433	ASO-000433	CCtcaagctccAGG	50	135743	135757	34%
ASO-000411	ASO-000411	CCtcaagctccAGG	51	135743	135756	51%
ASO-001781	ASO-001781	GTTAgcctaaagctccAGG	52	135743	135762	37%
ASO-000389	ASO-000389	TAGcctaaagctCCA	53	135744	135759	96%
ASO-001939	ASO-001939	TAGcctaaagctCCA	54	135744	135759	>100%
ASO-001932	ASO-001932	TAGcctaaagctCCA	55	135744	135759	86%
ASO-001925	ASO-001925	TAGcctaaagctCCA	56	135744	135759	>100%
ASO-001924	ASO-001924	TAGcctaaagctCCA	57	135744	135759	100%
ASO-001952	ASO-001952	TAGcctaaagctCCA	58	135744	135759	79%
ASO-001931	ASO-001931	TAGcctaaagctCCA	59	135744	135759	83%
ASO-001953	ASO-001953	TAGcctaaagctCCA	60	135744	135759	97%

【 図 4 - 3 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_00739 8	前 mRNA 終了 NG_00739 8	振動データ 対照%
ASO-001945	ASO-001945	TAGcctaaagctCCA	61	135744	135759	68%
ASO-001946	ASO-001946	TAGcctaaagctCCA	62	135744	135759	>100%
ASO-001971	ASO-001971	TAGcctaaagctCCA	63	135744	135759	81%
ASO-001938	ASO-001938	TAGcctaaagctCCA	64	135744	135759	87%
ASO-001959	ASO-001959	TAGcctaaagctCCA	65	135744	135759	83%
ASO-001965	ASO-001965	TAGcctaaagctCCA	66	135744	135759	83%
ASO-001782	ASO-001782	TGTTAgcctaaagctCCA	67	135744	135763	75%
ASO-000900	ASO-000900	TAGcctaaagctCCA	68	135744	135759	
ASO-000435	ASO-000435	TTAgcctaaagctCCC	69	135745	135760	29%
ASO-000423	ASO-000423	GTTAgcctaaagctTCC	70	135746	135761	>100%
ASO-000442	ASO-000442	TAGcctaaagctTCC	71	135746	135759	88%
ASO-000416	ASO-000416	GGTTAgcctaaagctGTC	72	135747	135762	
ASO-000438	ASO-000438	GTTAgcctaaagctAGT	73	135748	135761	61%
ASO-000581	ASO-000581	ACTggttagcctAAA	74	135750	135765	4%
ASO-000639	ASO-000639	AACTggttagcctTAA	75	135751	135766	31%
ASO-000558	ASO-000558	GAActggttagcctCTA	76	135752	135767	80%
ASO-000597	ASO-000597	GAGaactggttagcctCCC	77	135754	135769	2%
ASO-000245	ASO-000245	TACAagagaaactGGT	78	135760	135775	
ASO-000897	ASO-000897	CACaactggttagcctAAA	79	135770	135785	
ASO-000185	ASO-000185	GGCacaagctcttACA	80	135772	135787	
ASO-000426	ASO-000426	AGGcacaagctTTA	81	135774	135788	>100%
ASO-000417	ASO-000417	GAGcacaagctTTA	82	135774	135789	76%
ASO-000393	ASO-000393	AGAgcacaagctCTT	83	135775	135790	78%
ASO-000449	ASO-000449	AAGagcacaagctCCT	84	135776	135791	82%
ASO-000406	ASO-000406	AGAgcacaagctCCT	85	135776	135790	74%
ASO-000392	ASO-000392	CCAagagcacaagctGTC	86	135778	135793	74%
ASO-000444	ASO-000444	CAAagagcacaagctGTC	87	135778	135792	>100%
ASO-000443	ASO-000443	CCAagagcacaagctAGT	88	135779	135794	90%
ASO-000450	ASO-000450	CAAagagcacaagctAGT	89	135779	135792	36%

【 図 4 - 4 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_00739 8	前 mRNA 終了 NG_00739 8	振動データ 対照%
ASO-000258	ASO-000258	CTCcaagagacCAA	90	135781	135796	
ASO-000205	ASO-000205	TGcctgggagagGAC	91	135876	135891	
ASO-000213	ASO-000213	GGTgagctgggaATT	92	135984	135999	
ASO-000293	ASO-000293	GTGagctgggaATT	93	135984	135998	
ASO-000321	ASO-000321	TGtggagctgggaAAT	94	135985	136000	
ASO-000226	ASO-000226	CTAgatgggagTAGG	95	136040	136055	
ASO-000682	ASO-000682	AAttcaccctcaGTA	96	136049	136064	73%
ASO-000673	ASO-000673	TTAattcaccctCAG	97	136051	136066	42%
ASO-000578	ASO-000578	CTTaatcaccctCA	98	136052	136067	40%
ASO-000540-21	ASO-002180	CCTTaatcaccCTCA	99	136052	136068	
ASO-000540-22	ASO-002192	CCTTaatcaccCTCA	100	136052	136068	
ASO-000540-23	ASO-002109	CCCTaatcaccCTCA	101	136052	136068	
ASO-000540-24	ASO-002121	TcCCTaatcaccCT	102	136054	136070	
ASO-000540-25	ASO-002133	TcCCTaatcaccCT	103	136054	136070	
ASO-000540-26	ASO-002145	TcCCTaatcaccCT	104	136054	136070	
ASO-000540-27	ASO-002157	TcCCTaatcaccCT	105	136054	136070	
ASO-000540-28	ASO-002169	TcCCTaatcaccCT	106	136054	136070	
ASO-000540-29	ASO-002181	TCCctaatcaccCT	107	136054	136070	
ASO-000540-3	ASO-002154	CCCTaatcaccCTC	108	136053	136069	
ASO-000540-42	ASO-002147	CCCTaatcaccCTCA	109	136052	136069	
ASO-000540-43	ASO-002159	CCCTaatcaccCTCA	110	136052	136069	
ASO-000540-44	ASO-002171	CCCTaatcaccCTCA	111	136052	136069	
ASO-000540-45	ASO-002183	CCCTaatcaccCTCA	112	136052	136069	
ASO-000540-46	ASO-002195	CCCTaatcaccCTCA	113	136052	136069	

【 図 4 - 5 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_00739 8	前 mRNA 終了 NG_00739 8	振動データ 対照%
ASO-000540-47	ASO-002196	CCCTaatcaccCTCA	114	136052	136069	
ASO-000540-48	ASO-002200	CCCTaatcaccCTCA	115	136052	136069	
ASO-000540-49	ASO-002204	CCCTaatcaccCTCA	116	136052	136069	
ASO-000540-5	ASO-002178	CCCTaatcaccCTC	117	136053	136069	
ASO-000540-50	ASO-002208	CCCTaatcaccCTCA	118	136052	136069	
ASO-000540-51	ASO-002212	CCCTaatcaccCTCA	119	136052	136069	
ASO-000540-52	ASO-002216	TcCCTaatcaccCTC	120	136053	136070	
ASO-000540-53	ASO-002220	TcCCTaatcaccCTC	121	136053	136070	
ASO-000540-54	ASO-002224	TcCCTaatcaccCTC	122	136053	136070	
ASO-000540-55	ASO-002197	TCCctaatcaccCTC	123	136053	136070	
ASO-000540-69	ASO-002222	TCCctaatcaccCTCA	124	136052	136070	
ASO-000540-70	ASO-002226	TCCctaatcaccCTCA	125	136052	136070	
ASO-000540-71	ASO-002199	TCCctaatcaccCTCA	126	136052	136070	
ASO-000540-72	ASO-002203	TCCctaatcaccCTCA	127	136052	136070	
ASO-000540-73	ASO-002207	TCCctaatcaccCTCA	128	136052	136070	
ASO-000540-74	ASO-002211	TCCctaatcaccCTCA	129	136052	136070	
ASO-000540-75	ASO-002215	TCCctaatcaccCTCA	130	136052	136070	
ASO-000540-76	ASO-002219	TCCctaatcaccCTCA	131	136052	136070	
ASO-000540-77	ASO-002223	TCCctaatcaccCTCA	132	136052	136070	
ASO-000540-8	ASO-002119	CCCTaatcaccCTC	133	136053	136069	
ASO-000540-9	ASO-002131	CCCTaatcaccCTC	134	136053	136069	
TBD-mm10	ASO-002382	CCctgATtgcctCA	135	136053	136069	

【 図 4 - 6 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_007398	前 mRNA 終了 NG_007398	振動データ 対照%
TBD-mm11	ASO-002299	CCtgaTttcaacctC	136	136052	136068	
TBD-mm12	ASO-002311	CCtgaTttcaacctCG	137	136054	136070	
TBD-mm19	ASO-002300	CCctgatttcaacctCA	138	136052	136069	
TBD-mm20	ASO-002312	CCttaaTttcaacctCG	139	136054	136071	
TBD-mm21	ASO-002324	CCttaaTttcaacctCA	140	136052	136069	
TBD-mm22	ASO-002336	CCctgatttcaacctCA	141	136052	136069	
TBD-mm23	ASO-002348	CCctgatttcaacctCG	142	136053	136070	
TBD-mm24	ASO-002360	CCctgatttcaacctCT	143	136052	136069	
TBD-mm31	ASO-002349	TccTtgatttcaacctCA	144	136053	136071	
TBD-mm32	ASO-002361	TccTtaatttcaacctCG	145	136052	136070	
TBD-mm33	ASO-002373	CCcTtaatttcaacctCA	146	136053	136071	
TBD-mm34	ASO-002385	TccTtgatttcaacctCA	147	136052	136070	
TBD-mm35	ASO-002302	TCCtTgatttcaacctCG	148	136054	136072	
TBD-mm36	ASO-002314	CCcTtgatttcaacctCA	149	136054	136072	
TBD-mm7	ASO-002346	CCtgaTttcaacctCA	150	136053	136069	
TBD-mm8	ASO-002358	CCtgaTttcaacctCA	151	136053	136069	
TBD-mm9	ASO-002370	CCttaaTttcaacctCG	152	136052	136068	
ASO-000540	ASO-000540	CCTtaatttcaacctCTC	153	136053	136068	>100%
ASO-000555	ASO-000555	CTTaatccaacctCTC	154	136053	136067	>100%
ASO-000579	ASO-000579	TTAattccaacctCTC	155	136053	136066	44%
ASO-000540-1	ASO-002130	CCttaaTttcaacctCTC	156	136053	136069	
ASO-000540-10	ASO-002143	CCCTaatttcaacctCTC	157	136053	136069	
ASO-000540-11	ASO-002155	CCCTaatttcaacctCTC	158	136053	136069	

【 図 4 - 7 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_007398	前 mRNA 終了 NG_007398	振動データ 対照%
ASO-000540-12	ASO-002167	CCCTaatttcaacctCTC	159	136053	136069	
ASO-000540-13	ASO-002179	CCCTaatttcaacctCTC	160	136053	136069	
ASO-000540-14	ASO-002191	CCttaaTttcaacctCA	161	136052	136068	
ASO-000540-15	ASO-002108	CCCTaatttcaacctTCA	162	136052	136068	
ASO-000540-16	ASO-002120	CCTTaatttcaacctCA	163	136052	136068	
ASO-000540-17	ASO-002132	CCTTaatttcaacctCA	164	136052	136068	
ASO-000540-18	ASO-002144	CCTTaatttcaacctCA	165	136052	136068	
ASO-000540-19	ASO-002156	CCTTaatttcaacctTCA	166	136052	136068	
ASO-000540-2	ASO-002142	CCCTaatttcaacctCTC	167	136053	136069	
ASO-000540-20	ASO-002168	CCTTaatttcaacctCA	168	136052	136068	
ASO-000540-56	ASO-002201	TCCcttaatttcaacctCTC	169	136053	136070	
ASO-000540-57	ASO-002205	TCCcttaatttcaacctCTC	170	136053	136070	
ASO-000540-58	ASO-002209	TCCcttaatttcaacctCTC	171	136053	136070	
ASO-000540-59	ASO-002213	TCCcttaatttcaacctCTC	172	136053	136070	
ASO-000540-6	ASO-002190	CCCTaatttcaacctCTC	173	136053	136069	
ASO-000540-60	ASO-002217	TCCcttaatttcaacctCTC	174	136053	136070	
ASO-000540-61	ASO-002221	TCCcttaatttcaacctCTC	175	136053	136070	
ASO-000540-62	ASO-002225	TCCcttaatttcaacctCTC	176	136053	136070	
ASO-000540-63	ASO-002198	TCCcttaatttcaacctCTC	177	136053	136070	
ASO-000540-64	ASO-002202	TCCcttaatttcaacctCTC	178	136053	136070	
ASO-000540-65	ASO-002206	TCCcttaatttcaacctCTC	179	136053	136070	
ASO-000540-66	ASO-002210	TCCcttaatttcaacctCTC	180	136052	136070	

【 図 4 - 8 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_007398	前 mRNA 終了 NG_007398	振動データ 対照%
ASO-000540-67	ASO-002214	TCCcttaatttcaacctTCA	181	136052	136070	
ASO-000540-68	ASO-002218	TCCcttaatttcaacctTCA	182	136052	136070	
ASO-000540-mm1	ASO-002297	CCctgatttcaacctCTC	183	136053	136068	
ASO-000540-mm2	ASO-002309	CCtTaatttcaacctCTC	184	136053	136068	
ASO-000540-mm3	ASO-002321	CCtTaatttcaacctCTC	185	136053	136068	
ASO-000540-mm4	ASO-002333	CCctgatttcaacctCTC	186	136053	136068	
ASO-000540-mm5	ASO-002345	CCctgatttcaacctCTC	187	136053	136068	
ASO-000540-mm6	ASO-002357	CCctgatttcaacctCTC	188	136053	136068	
TBD-mm1	ASO-002369	CCctgatttcaacctTC	189	136052	136068	
TBD-mm2	ASO-002381	CCctgatttcaacctTC	190	136053	136069	
TBD-mm25	ASO-002372	TccCTtgatttcaacctCTC	191	136052	136069	
TBD-mm26	ASO-002384	TccCTTaatttcaacctCTC	192	136052	136069	
TBD-mm27	ASO-002301	TccCTTaatttcaacctCTC	193	136052	136069	
TBD-mm28	ASO-002313	TccCTTaatttcaacctCTC	194	136054	136071	
TBD-mm29	ASO-002325	TccCTTaatttcaacctCTC	195	136052	136069	
TBD-mm3	ASO-002298	CCcttaatttcaacctCTC	196	136053	136069	
TBD-mm30	ASO-002337	CCcCTTaatttcaacctCTC	197	136053	136070	
TBD-mm4	ASO-002310	CCctgatttcaacctTC	198	136054	136070	
TBD-mm5	ASO-002322	CCctgatttcaacctCTC	199	136052	136068	
TBD-mm6	ASO-002334	CCctTaatttcaacctTC	200	136052	136068	
ASO-000662	ASO-000662	CCCTaatttcaacctCTC	201	136054	136069	81%

【 図 4 - 9 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_007398	前 mRNA 終了 NG_007398	振動データ 対照%
ASO-000566	ASO-000566	CCTtaatttcaacctCTC	202	136054	136068	>100%
ASO-000540-30	ASO-002193	TCCcttaatttcaacctCT	203	136054	136070	
ASO-000540-31	ASO-002110	TCCctTaatttcaacctCT	204	136054	136070	
ASO-000540-32	ASO-002122	TCCctTaatttcaacctCT	205	136054	136070	
ASO-000540-33	ASO-002134	TCCcttaatttcaacctCTC	206	136054	136070	
ASO-000540-34	ASO-002146	TCCcttaatttcaacctCTC	207	136054	136070	
ASO-000540-35	ASO-002158	TCCcttaatttcaacctCTC	208	136054	136070	
ASO-000540-36	ASO-002170	TCCcttaatttcaacctCTC	209	136054	136070	
ASO-000540-37	ASO-002182	CCCTaatttcaacctCA	210	136052	136069	
ASO-000540-38	ASO-002194	CCCTaatttcaacctTCA	211	136052	136069	
ASO-000540-39	ASO-002111	CCCTaatttcaacctCTC	212	136052	136069	
ASO-000540-4	ASO-002166	CCCTaatttcaacctCTC	213	136053	136069	
ASO-000540-40	ASO-002123	CCCTaatttcaacctCTC	214	136052	136069	
ASO-000540-41	ASO-002135	CCCTaatttcaacctCTC	215	136052	136069	
TBD-mm13	ASO-002323	TccCTTgatttcaacctCT	216	136053	136069	
TBD-mm14	ASO-002335	TccCTTaatttcaacctCT	217	136052	136068	
TBD-mm15	ASO-002347	TccCTTaatttcaacctCT	218	136053	136069	
TBD-mm16	ASO-002359	TccCTTgatttcaacctCT	219	136053	136069	
TBD-mm17	ASO-002371	TccCTTgatttcaacctCT	220	136052	136068	
TBD-mm18	ASO-002383	TccCTTgatttcaacctCT	221	136052	136068	
ASO-000628	ASO-000628	CCCTaatttcaacctCTC	222	136055	136068	67%
ASO-000642	ASO-000642	CCCTaatttcaacctCTC	223	136055	136069	>100%
ASO-000274	ASO-000274	TCCcttaatttcaacctCTC	224	136055	136070	

【 図 4 - 1 0 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_00739 8	前 mRNA 終了 NG_00739 8	振動データ 対照%
ASO-00039	ASO-00039	CCtaatttcaCCC	225	136055	136068	
ASO-000536	ASO-000536	TTCCtaatttcaACC	226	136056	136071	>100%
ASO-000603	ASO-000603	TCccttaatttcaACC	227	136056	136070	80%
ASO-000666	ASO-000666	TCccttaatttCAC	228	136057	136070	>100%
ASO-000272	ASO-000272	AGAgtagagagctGGG	229	136099	136114	
ASO-000255	ASO-000255	TGGatgtagtgaactCG	230	136115	136130	
ASO-000336	ASO-000336	GGAtgtagtgaactCT	231	136116	136129	
ASO-000206	ASO-000206	GTTgtagtgaactGAA	232	136118	136132	
ASO-000271	ASO-000271	AGTggatgtagtGGA	233	136119	136133	
ASO-000340	ASO-000340	GTTgtagtgaactGGA	234	136119	136132	
ASO-000229	ASO-000229	CAGgtagtgaactCAG	235	136160	136175	
ASO-000273	ASO-000273	GCcctgtagtcaactCT	236	136193	136208	
ASO-000264	ASO-000264	ACAaggtagtgaactACC	237	136229	136244	
ASO-000341	ASO-000341	TGTcaagaactCAG	238	136236	136249	
ASO-000198	ASO-000198	TGCcctgtagtgcTTG	239	136355	136370	
ASO-000210	ASO-000210	AGCggtagtgcGCC	240	136371	136386	
ASO-000342	ASO-000342	GGgtagtgcactACT	241	136378	136391	
ASO-000333	ASO-000333	GCcctgtagtgcTCT	242	136427	136442	
ASO-000199	ASO-000199	CAGAacagtagtGATG	243	136541	136556	
ASO-000280	ASO-000280	TCTatgtagtTCA	244	136567	136582	
ASO-000211	ASO-000211	ATCtagttagtTTC	245	136568	136583	
ASO-000347	ASO-000347	CATctatgtagtTGT	246	136570	136584	
ASO-000352	ASO-000352	ACtctatgtagtTGT	247	136570	136585	
ASO-000232	ASO-000232	CACacaggtagtGATG	248	136600	136615	
ASO-000257	ASO-000257	AGCataaacagtagtAAA	249	136629	136644	
ASO-000388	ASO-000388	ATAgcactctgTGA	250	136650	136665	86%
ASO-000390	ASO-000390	TAGcactctgTGA	251	136650	136664	78%
ASO-000413	ASO-000413	AGTcactctgTGA	252	136650	136663	97%
ASO-000405	ASO-000405	CATagcactctgGTG	253	136651	136666	2%

【 図 4 - 1 1 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_00739 8	前 mRNA 終了 NG_00739 8	振動データ 対照%
ASO-000430	ASO-000430	TAGtactctgGTG	254	136651	136664	82%
ASO-000447	ASO-000447	TCAtagcactctGGT	255	136652	136667	86%
ASO-000396	ASO-000396	TACatgtagtTTC	256	136693	136706	92%
ASO-000395	ASO-000395	GATatagtagtTTC	257	136693	136708	>100%
ASO-000394	ASO-000394	AAGatcactgctCCT	258	136695	136710	>100%
ASO-000421	ASO-000421	TTCaagtagctGGT	259	136698	136713	
ASO-000400	ASO-000400	ATTcaagtagtTGC	260	136700	136715	
ASO-000248	ASO-000248	GCAttcaagtagCAT	261	136702	136717	
ASO-000451	ASO-000451	AAGcatttcaagTAC	262	136704	136719	67%
ASO-000707	ASO-000707	ACAagcatttcaagGAT	263	136706	136721	
ASO-000619	ASO-000619	TTAcaagcatttcaag	264	136708	136723	37%
ASO-000671	ASO-000671	AACTcctttcaagGCA	265	136715	136730	
ASO-000221	ASO-000221	GTTgaagaactTTA	266	136721	136736	
ASO-000298	ASO-000298	CCAacagtagctACG	267	136726	136741	
ASO-000311	ASO-000311	GTCTctgtagtCCC	268	136842	136857	
ASO-000290	ASO-000290	TGAagcctctTAG	269	136871	136886	
ASO-000437	ASO-000437	CTGcttagtCCT	270	136896	136911	51%
ASO-000446	ASO-000446	TCCtagttagtGCC	271	136898	136913	76%
ASO-000685	ASO-000685	AACTccttagtAGG	272	136900	136915	7%
ASO-000410	ASO-000410	TCCtagttagtAGG	273	136900	136913	>100%
ASO-000604	ASO-000604	AACTccttagtCAG	274	136901	136915	57%
ASO-000490	ASO-000490	TATccttagtCAG	275	136901	136916	7%
ASO-000529	ASO-000529	AACTccttagtTCA	276	136902	136915	10%
ASO-000532	ASO-000532	CTAactcttagtTCA	277	136902	136917	100%
ASO-000508	ASO-000508	TATccttagtTCA	278	136902	136916	87%
ASO-000219	ASO-000219	CCTaactcttagtTTC	279	136903	136918	
ASO-000656	ASO-000656	TATccttagtTTC	280	136903	136916	2%
ASO-000522	ASO-000522	CTAactcttagtTTC	281	136903	136917	73%
ASO-000513	ASO-000513	CCTaactcttagtTTC	282	136904	136918	58%

【 図 4 - 1 2 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_00739 8	前 mRNA 終了 NG_00739 8	振動データ 対照%
ASO-000640	ASO-000640	TCCTaactctgCTT	283	136904	136919	23%
ASO-000661	ASO-000661	CTAactctgCTT	284	136904	136917	26%
ASO-000478	ASO-000478	GTCTaactctgGCT	285	136905	136920	88%
ASO-000500	ASO-000500	TCTaactctgGCT	286	136905	136919	>100%
ASO-000601	ASO-000601	CCtaactctgGCT	287	136905	136918	63%
ASO-000643	ASO-000643	AGTCTaactctgTGC	288	136906	136921	25%
ASO-000600	ASO-000600	GTCTaactctgTGC	289	136906	136920	37%
ASO-000525	ASO-000525	TCTaactctgTGC	290	136906	136919	65%
ASO-000453	ASO-000453	TCTaactctgTGT	291	136908	136923	53%
ASO-000553	ASO-000553	CTTgactctcactCT	292	136910	136925	96%
ASO-000622	ASO-000622	GCTgactctcactATC	293	136912	136926	11%
ASO-000325	ASO-000325	CTGacacagtagtCCC	294	136956	136971	
ASO-000215	ASO-000215	GCcagacagtagtCAA	295	136987	137002	
ASO-000482	ASO-000482	CAGgtagtgaAGC	296	137065	137078	78%
ASO-000337	ASO-000337	TGCagtagtgaAGC	297	137065	137080	
ASO-000480	ASO-000480	ATGCagtagtgaAGC	298	137066	137081	41%
ASO-000644	ASO-000644	GATgtagtagtTAA	299	137067	137082	0%
ASO-000695	ASO-000695	TGCagtagtTAA	300	137067	137080	
ASO-000455	ASO-000455	TGAtcagtagtGTA	301	137068	137083	8%
ASO-000531	ASO-000531	GTGtagtagtTGT	302	137069	137084	14%
ASO-000651	ASO-000651	TGTgtagtagtTTG	303	137070	137085	29%
ASO-000007	ASO-000007	TGTgtagtagtGTT	304	137071	137085	
ASO-000419	ASO-000419	GTGtagtagtGTT	305	137071	137084	65%
ASO-000730	ASO-000730	TGTgtagtagtGTT	306	137071	137085	
ASO-000728	ASO-000728	TGTgtagtagtGTT	307	137071	137085	
ASO-000729	ASO-000729	TGTgtagtagtGTT	308	137071	137085	
ASO-000727	ASO-000727	TGTgtagtagtGTT	309	137071	137085	
ASO-000715	ASO-000715	TGTgtagtagtTT	310	137071	137085	
ASO-000716	ASO-000716	GATgtagtagtTT	311	137071	137082	

【 図 4 - 1 3 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_00739 8	前 mRNA 終了 NG_00739 8	振動データ 対照%
ASO-000721	ASO-000721	TGTgtagtagtGTT	312	137071	137085	
ASO-000722	ASO-000722	TGTgtagtagtGTT	313	137071	137085	
ASO-000723	ASO-000723	TGTgtagtagtGTT	314	137071	137085	
ASO-000724	ASO-000724	TGTgtagtagtGTT	315	137071	137085	
ASO-000725	ASO-000725	TGTgtagtagtGTT	316	137071	137085	
ASO-000726	ASO-000726	TGTgtagtagtGTT	317	137071	137085	
ASO-000731	ASO-000731	TGTgtagtagtGTT	318	137071	137085	
ASO-000718	ASO-000718	TGTgtagtagtGTT	319	137072	137083	
ASO-000445	ASO-000445	TGTgtagtagtGAG	320	137073	137086	0%
ASO-000436	ASO-000436	CTTgtagtagtGAG	321	137073	137087	88%
ASO-000717	ASO-000717	GTgtagtagtGAG	322	137073	137084	
ASO-000570	ASO-000570	TCTgtagtagtGGA	323	137074	137089	61%
ASO-000408	ASO-000408	TCTgtagtagtGGA	324	137074	137088	92%
ASO-000401	ASO-000401	CTTgtagtagtGGA	325	137074	137087	70%
ASO-000719	ASO-000719	TGTgtagtagtGGA	326	137074	137085	
ASO-000313	ASO-000313	CAGgtagtagtTGG	327	137173	137188	
ASO-000331	ASO-000331	AACTccttagtGTC	328	137223	137238	
ASO-000251	ASO-000251	AGGcaactcctCCC	329	137239	137252	
ASO-000574	ASO-000574	TGGtaagtagtGGG	330	137326	137341	0%
ASO-000218	ASO-000218	TCTgtagtagtTTG	331	137328	137343	
ASO-000634	ASO-000634	CTCgtagtagtTTT	332	137329	137344	0%
ASO-000497	ASO-000497	GGTgtagtagtGCA	333	137333	137348	15%
ASO-000569	ASO-000569	GGTgtagtagtCAA	334	137335	137348	>100%
ASO-000565	ASO-000565	GCTgtagtagtGGT	335	137338	137353	19%
ASO-000296	ASO-000296	AGTttagtagtTCA	336	137358	137373	
ASO-000663	ASO-000663	GAGttgtagtagtGTC	337	137359	137374	0%
ASO-000670	ASO-000670	AGTttagtagtGTC	338	137359	137373	0%
ASO-000261	ASO-000261	GGAgttgtagtagtGTT	339	137360	137375	
ASO-000262	ASO-000262	GGAgttgtagtagtAGG	340	137361	137375	

【 図 4 - 1 4 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_007398	前 mRNA 終了 NG_007398	振動データ 対照%
ASO-000275	ASO-000275	TGGagttgtgcaAGG	341	137361	137376	
ASO-000247	ASO-000247	ATGagttgtgcaAAG	342	137362	137377	
ASO-000303	ASO-000303	TGAgagttgtgcaAAG	343	137362	137376	
ASO-000299	ASO-000299	ATGagttgtgcaCAA	344	137363	137377	
ASO-000270	ASO-000270	AGATgagttgtgca	345	137364	137379	
ASO-000297	ASO-000297	AGCagagagttGT	346	137367	137382	
ASO-000259	ASO-000259	TTCTtaggagcAAT	347	137416	137431	
ASO-000220	ASO-000220	TGTAccaaccaGAA	348	137462	137477	
ASO-000278	ASO-000278	GTGctttaaCT	349	137475	137489	
ASO-000334	ASO-000334	GCCTgagttctACT	350	137505	137520	
ASO-000241	ASO-000241	TGGTgagagttcTGG	351	137583	137598	
ASO-000289	ASO-000289	TTCTagagttcTCA	352	137643	137658	
ASO-000233	ASO-000233	CTCAccaaccaCAA	353	137682	137697	
ASO-000201	ASO-000201	AGGcaacaagaCTC	354	137765	137780	
ASO-000645	ASO-000645	ATCtagctgccc	355	137851	137865	51%
ASO-000546	ASO-000546	ATCtagctgccc	356	137851	137866	91%
ASO-000692	ASO-000692	TGATtagctgccc	357	137852	137867	
ASO-000511	ASO-000511	GATtagctgccc	358	137852	137866	8%
ASO-000538	ASO-000538	TGCTtagctgccc	359	137853	137867	44%
ASO-000214	ASO-000214	ATGatctagctGGC	360	137853	137868	
ASO-000653	ASO-000653	GAtagctgccc	361	137853	137866	5%
ASO-000615	ASO-000615	CATgatttagctGG	362	137854	137869	8%
ASO-000524	ASO-000524	CCATgatttagctGG	363	137855	137870	18%
ASO-000492	ASO-000492	CATgatttagctGG	364	137855	137869	46%
ASO-000468	ASO-000468	ACATgatttagctGG	365	137856	137871	88%
ASO-000698	ASO-000698	CCATgatttagctGG	366	137856	137870	
ASO-000593	ASO-000593	CATgatttagctGG	367	137856	137869	25%
ASO-000519	ASO-000519	AAcattgatttagctGG	368	137858	137873	81%
ASO-000582	ASO-000582	CTAaaccagctTFA	369	137860	137875	21%

【 図 4 - 1 5 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_007398	前 mRNA 終了 NG_007398	振動データ 対照%
ASO-000635	ASO-000635	CCCTaaccatgaTCT	370	137862	137877	90%
ASO-000471	ASO-000471	CACcctaaccatGAT	371	137864	137879	71%
ASO-000701	ASO-000701	ATCaccctaaccATG	372	137866	137881	
ASO-000533	ASO-000533	TGAtaccctaaccCCA	373	137868	137883	>100%
ASO-000323	ASO-000323	GAGgagtcaccagCCC	374	137947	137962	
ASO-000329	ASO-000329	TGCagtgaggagaAGT	375	137973	137988	
ASO-000194	ASO-000194	TATctagcccaCCC	376	138003	138016	
ASO-000192	ASO-000192	CTAtctagcccaCCC	377	138003	138017	
ASO-000343	ASO-000343	TAtctatctctGCC	378	138008	138021	
ASO-000212	ASO-000212	TTGataaagtgaGTC	379	138050	138064	
ASO-000230	ASO-000230	ATTgataaagtgaAGT	380	138051	138065	
ASO-000188	ASO-000188	AAcattgataaAGT	381	138055	138069	
ASO-000415	ASO-000415	GAAcattgataAAA	382	138057	138070	86%
ASO-000448	ASO-000448	GGAAcattgataTAA	383	138058	138071	0%
ASO-000190	ASO-000190	AAATgataaactGAT	384	138060	138075	
ASO-000191	ASO-000191	AAATgataaactTGA	385	138061	138074	
ASO-000348	ASO-000348	TCAATtaaaGGAA	386	138068	138082	
ASO-000349	ASO-000349	GTcaattaaTGGAA	387	138069	138083	
ASO-000200	ASO-000200	GGAtaagaactcaCCA	388	138089	138104	
ASO-000630	ASO-000630	GCAaaccagatcAGT	389	138096	138111	0%
ASO-000614	ASO-000614	CAAcaggatcAGT	390	138096	138110	50%
ASO-000563	ASO-000563	AAcaggatcAGT	391	138096	138109	>100%
ASO-000527	ASO-000527	TAGcaaacagatACA	392	138098	138113	50%
ASO-000617	ASO-000617	ATAgcaaacagatTAC	393	138099	138114	28%
ASO-000539	ASO-000539	AAATgataaactATA	394	138100	138115	82%
ASO-000691	ASO-000691	CAATgataaacagGAT	395	138101	138116	
ASO-000589	ASO-000589	AAATgataaacagGAT	396	138101	138115	4%
ASO-000509	ASO-000509	GCAatgataaacagGAT	397	138102	138117	
ASO-000674	ASO-000674	CAATgataaacagGGA	398	138102	138116	

【 図 4 - 1 6 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_007398	前 mRNA 終了 NG_007398	振動データ 対照%
ASO-000488	ASO-000488	GCAatgcaaacAGG	399	138103	138117	41%
ASO-000507	ASO-000507	AGCAatgcaaacAGG	400	138103	138118	49%
ASO-000521	ASO-000521	AGCAatgcaaacCAG	401	138104	138118	53%
ASO-000288	ASO-000288	AAGcaatgcaaacCAG	402	138104	138119	
ASO-000552	ASO-000552	AAAGcaatgcaaacACA	403	138105	138119	>100%
ASO-000250	ASO-000250	CAAatggttgaAAT	404	138223	138238	
ASO-000294	ASO-000294	GCAaatggttgaAAA	405	138274	138239	
ASO-000318	ASO-000318	TAGcaaatggttgaTGA	406	138226	138241	
ASO-000308	ASO-000308	CCCAagagcctctAAC	407	138263	138278	
ASO-000254	ASO-000254	AAAGcaaacagatGTC	408	138361	138376	
ASO-000545	ASO-000545	AAAGagagcagcagGCC	409	138377	138392	73%
ASO-000476	ASO-000476	GAaagagcagcagAGG	410	138379	138394	0%
ASO-000620	ASO-000620	CTGaaagagcagcagGCA	411	138381	138396	37%
ASO-000477	ASO-000477	CTGaaagagcagcagCAG	412	138383	138398	18%
ASO-000562	ASO-000562	TGAttgagctTAGG	413	138401	138416	3%
ASO-000547	ASO-000547	ATGattgagctTAG	414	138402	138417	24%
ASO-000696	ASO-000696	TGAttgagctTAG	415	138402	138416	
ASO-000279	ASO-000279	GATtgagctTAG	416	138402	138415	
ASO-000543	ASO-000543	CATgattgagctTFA	417	138403	138418	0%
ASO-000626	ASO-000626	TGAttgagctTFA	418	138403	138416	29%
ASO-000650	ASO-000650	ATGatgagctTFA	419	138403	138417	8%
ASO-000599	ASO-000599	CATgattgagctCTT	420	138404	138418	0%
ASO-000542	ASO-000542	GCAGatgagctCTT	421	138404	138419	47%
ASO-000463	ASO-000463	GGCagatgagctGCT	422	138405	138420	6%
ASO-000605	ASO-000605	GCAatgagctGCT	423	138405	138419	0%
ASO-000479	ASO-000479	CATgattgagctGCT	424	138405	138418	
ASO-000474	ASO-000474	GCAatgagctGGC	425	138406	138419	86%
ASO-000675	ASO-000675	GGCagatgagctGGC	426	138406	138420	5%
ASO-000537	ASO-000537	AGCagatgagctGGC	427	138406	138421	0%

【 図 4 - 1 7 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_007398	前 mRNA 終了 NG_007398	振動データ 対照%
ASO-000287	ASO-000287	AGGagagcagatGT	428	138410	138425	
ASO-000292	ASO-000292	GGGagagcagatGT	429	138410	138424	
ASO-000216	ASO-000216	TTAggagagcagATT	430	138412	138427	
ASO-000266	ASO-000266	TTAggagagcagGAT	431	138413	138427	
ASO-000256	ASO-000256	TCTtagagagcagTGA	432	138414	138429	
ASO-000269	ASO-000269	GAGgagagcagagGGT	433	138460	138475	
ASO-000350	ASO-000350	CAGtgagagagGG	434	138469	138483	
ASO-000353	ASO-000353	CAGtgagagagTG	435	138470	138483	
ASO-000310	ASO-000310	ACAaagatgagagGGG	436	138532	138547	
ASO-000309	ASO-000309	AAcagagagagAGG	437	138533	138548	
ASO-000263	ASO-000263	GAAgagagatcagAAG	438	138631	138646	
ASO-000197	ASO-000197	TCTagagcagctCCA	439	138667	138682	
ASO-000239	ASO-000239	AGTctattagAGG	440	138689	138702	
ASO-000267	ASO-000267	GCTcaacagcagAAC	441	138714	138729	
ASO-000306	ASO-000306	TGCAagtgccagAAA	442	138737	138751	
ASO-000345	ASO-000345	GCAagtgccagAAA	443	138737	138750	
ASO-000193	ASO-000193	AACTagagagctTGA	444	138748	138763	
ASO-000284	ASO-000284	GATtcatgctccTCC	445	138788	138803	
ASO-000209	ASO-000209	GCTaagctagaTGA	446	138802	138816	
ASO-000207	ASO-000207	CTAagctagaTGA	447	138802	138815	
ASO-000301	ASO-000301	TAGacattcacGAC	448	138822	138836	
ASO-000234	ASO-000234	TATagacattcacCAG	449	138824	138838	
ASO-000332	ASO-000332	AAAcacacatcacACT	450	138840	138855	
SPC-15693-01	ASO-002268	CAGcaacagctcagGT	451	138869	138884	
SPC-15692-01	ASO-002268	ACagcaacagctcagTG	452	138870	138885	
SPC-15691-01	ASO-002260	TAcagcaacagctcagGT	453	138871	138886	
SPC-15690-01	ASO-002252	TTAcagcaacagctcagAG	454	138872	138887	

【 図 4 - 1 8 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_00739 8	前 mRNA 終了 NG_00739 8	振動データ 対照%
SPC-15689-01	ASO-002244	TTTcagcaacagcCA	455	138873	138888	
SPC-15688-01	ASO-002290	TTttacagcaacGTC	456	138874	138889	
SPC-15687-01	ASO-002274	CTtttacagcaacGT	457	138875	138890	
SPC-15686-01	ASO-002275	ACttttacagcaacCAG	458	138876	138891	
SPC-15685-01	ASO-002267	CActtttacagcaacCA	459	138877	138892	
SPC-15684-01	ASO-002259	TCacttttacagCAAC	460	138878	138893	
SPC-15683-01	ASO-002251	TTcacttttacagCAA	461	138879	138894	
SPC-15682-01	ASO-002243	ATTcacttttacagCA	462	138880	138895	
SPC-15681-01	ASO-002234	AAATtacttttacagGC	463	138881	138896	
SPC-15680-01	ASO-002289	AAATcactttTACAG	464	138882	138897	
SPC-15679-01	ASO-002281	CAaattcactttTACA	465	138883	138898	
ASO-002090	ASO-002090	ATTtCcaattcactTTtTAC	466	138884	138903	>100%
ASO-002043	ASO-002043	ATtTcCaattcactTTtTAC	467	138884	138903	>100%
ASO-002076	ASO-002076	ATtTcCaattcactTTtTAC	468	138884	138903	>100%
ASO-002062	ASO-002062	ATtTcCaattcactTTtTAC	469	138884	138903	>100%
ASO-002082	ASO-002082	ATtTcCaattcactTTtTAC	470	138884	138903	>100%
ASO-000753	ASO-000753	ATTtCcaattcactTTtTAC	471	138884	138903	>100%
ASO-001940	ASO-001940	ATtTcCaattcactTTtTAC	472	138884	138903	85%
ASO-001933	ASO-001933	ATtTcCaattcactTTtTAC	473	138884	138903	>100%
ASO-001919	ASO-001919	ATTtCcaattcactTTtTAC	474	138884	138903	>100%
ASO-002094	ASO-002094	ATtTcCaattcactTTtTAC	475	138884	138903	83%
ASO-002034	ASO-002034	ATtTcCaattcactTTtTAC	476	138884	138903	>100%
ASO-002036	ASO-002036	ATtTcCaattcactTTtTAC	477	138884	138903	>100%
ASO-002084	ASO-002084	ATtTcCaattcactTTtTAC	478	138884	138903	>100%
ASO-002037	ASO-002037	ATTtCcaattcactTTtTAC	479	138884	138903	>100%

【 図 4 - 1 9 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_00739 8	前 mRNA 終了 NG_00739 8	振動データ 対照%
ASO-002058	ASO-002058	ATTtCcaattcactTTtTAC	480	138884	138903	>100%
ASO-002057	ASO-002057	ATTtCcaattcactTTtTAC	481	138884	138903	>100%
ASO-001926	ASO-001926	ATTtCcaattcactTTtTAC	482	138884	138903	79%
ASO-002092	ASO-002092	ATtTcCaattcactTTtTAC	483	138884	138903	>100%
ASO-002023	ASO-002023	ATTtCcaattcactTTtTAC	484	138884	138903	>100%
ASO-000758	ASO-000758	ATtTcCaattcactTTtTAC	485	138884	138903	>100%
ASO-002065	ASO-002065	ATtTcCaattcactTTtTAC	486	138884	138903	>100%
ASO-002038	ASO-002038	ATtTcCaattcactTTtTAC	487	138884	138903	>100%
ASO-002039	ASO-002039	ATtTcCaattcactTTtTAC	488	138884	138903	35%
ASO-000763	ASO-000763	ATtTcCaattcactTTtTAC	489	138884	138903	>100%
ASO-000768	ASO-000768	AttTcCaattcactTTtTAC	490	138884	138903	>100%
ASO-001933-mm1	ASO-002291	@TTcCaattcactTTtTAC	491	138884	138903	
ASO-001933-mm2	ASO-002303	AtTtCcaattcactTTtTAC	492	138884	138903	
ASO-001933-mm3	ASO-002315	TtTtCcaattcactTTtTAC	493	138884	138903	
ASO-001933-mm4	ASO-002327	@TTcCaattcactTTtTAC	494	138884	138903	
ASO-001933-mm5	ASO-002339	ATtTcCaattcactTTtTAC	495	138884	138903	
ASO-001933-mm6	ASO-002351	AtTtCcaattcactTTtTAC	496	138884	138903	
SPC-15678-01	ASO-002274	CCaattcactTTtTAC	497	138884	138899	
SPC-15857-01	ASO-002326	ATtTcCaattcactTTtTAC	498	138884	138903	
SPC-15858-01	ASO-002338	ATtTcCaattcactTTtTAC	499	138884	138903	
SPC-15860-01	ASO-002362	ATTtCcaattcactTTtTAC	500	138884	138903	
SPC-15864-01	ASO-002236	ATTtCcaattcactTTtTAC	501	138884	138903	
SPC-15868-01	ASO-002269	ATtTcCaattcactTTtTAC	502	138884	138903	

【 図 4 - 2 0 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_00739 8	前 mRNA 終了 NG_00739 8	振動データ 対照%
SPC-15872-01	ASO-002237	ATtTcCaattcactTTtTAC	503	138884	138903	
SPC-15873-01	ASO-002246	ATTtCcaattcactTTtTAC	504	138884	138903	
SPC-15874-01	ASO-002254	ATTtCcaattcactTTtTAC	505	138884	138903	
SPC-15878-01	ASO-002284	ATtTcCaattcactTTtTAC	506	138884	138903	
SPC-15879-01	ASO-002229	ATTtCcaattcactTTtTAC	507	138884	138903	
SPC-15880-01	ASO-002238	ATTtCcaattcactTTtTAC	508	138884	138903	
SPC-15883-01	ASO-002263	ATtTcCaattcactTTtTAC	509	138884	138903	
SPC-15888-01	ASO-002239	ATTtCcaattcactTTtTAC	510	138884	138903	
ASO-000754	ASO-000754	TATTtCcaattcactTTtTAC	511	138885	138904	>100%
ASO-002055	ASO-002055	TAttTcCaattcactTTtTAC	512	138885	138904	>100%
ASO-002035	ASO-002035	TAttTcCaattcactTTtTAC	513	138885	138904	>100%
ASO-002048	ASO-002048	TAttTcCaattcactTTtTAC	514	138885	138904	>100%
ASO-002053	ASO-002053	TAttTcCaattcactTTtTAC	515	138885	138904	>100%
ASO-002067	ASO-002067	TAttTcCaattcactTTtTAC	516	138885	138904	>100%
ASO-001954	ASO-001954	TATTtCcaattcactTTtTAC	517	138885	138904	>100%
ASO-001947	ASO-001947	TAttTcCaattcactTTtTAC	518	138885	138904	>100%
ASO-002081	ASO-002081	TAttTcCaattcactTTtTAC	519	138885	138904	>100%
ASO-001966	ASO-001966	TAttTcCaattcactTTtTAC	520	138885	138904	>100%
ASO-002025	ASO-002025	TAttTcCaattcactTTtTAC	521	138885	138904	>100%
ASO-002033	ASO-002033	TAttTcCaattcactTTtTAC	522	138885	138904	>100%
ASO-001960	ASO-001960	TAttTcCaattcactTTtTAC	523	138885	138904	>100%
ASO-002056	ASO-002056	TAttTcCaattcactTTtTAC	524	138885	138904	>100%
ASO-002063	ASO-002063	TAttTcCaattcactTTtTAC	525	138885	138904	>100%
ASO-002089	ASO-002089	TAttTcCaattcactTTtTAC	526	138885	138904	>100%
ASO-002073	ASO-002073	TAttTcCaattcactTTtTAC	527	138885	138904	>100%
ASO-002027	ASO-002027	TAttTcCaattcactTTtTAC	528	138885	138904	>100%

【 図 4 - 2 1 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_00739 8	前 mRNA 終了 NG_00739 8	振動データ 対照%
ASO-002075	ASO-002075	TAttTcCaattcactTTtTAC	529	138885	138904	>100%
ASO-002028	ASO-002028	TAttTcCaattcactTTtTAC	530	138885	138904	77%
ASO-002085	ASO-002085	TAttTcCaattcactTTtTAC	531	138885	138904	>100%
ASO-002083	ASO-002083	TAttTcCaattcactTTtTAC	532	138885	138904	>100%
ASO-000759	ASO-000759	TAttTcCaattcactTTtTAC	533	138885	138904	>100%
ASO-000769	ASO-000769	TAttTcCaattcactTTtTAC	534	138885	138904	>100%
ASO-000764	ASO-000764	TAttTcCaattcactTTtTAC	535	138885	138904	>100%
ASO-001954-mm1	ASO-002340	TATTtCcaattcactTTtTAC	536	138885	138904	
ASO-001954-mm2	ASO-002352	TATTtCcaattcactTTtTAC	537	138885	138904	
ASO-001954-mm3	ASO-002364	@ATTtCcaattcactTTtTAC	538	138885	138904	
ASO-001954-mm4	ASO-002376	@TTTtCcaattcactTTtTAC	539	138885	138904	
ASO-001954-mm5	ASO-002293	@ATTtCcaattcactTTtTAC	540	138885	138904	
ASO-001954-mm6	ASO-002305	TATTtCcaattcactTTtTAC	541	138885	138904	
SPC-15677-01	ASO-002266	TCCaattcactTTtTAC	542	138885	138900	
SPC-15859-01	ASO-002350	TAttTcCaattcactTTtTAC	543	138885	138904	
SPC-15861-01	ASO-002374	TAttTcCaattcactTTtTAC	544	138885	138904	
SPC-15862-01	ASO-002386	TAttTcCaattcactTTtTAC	545	138885	138904	
SPC-15863-01	ASO-002227	TAttTcCaattcactTTtTAC	546	138885	138904	
SPC-15865-01	ASO-002245	TAttTcCaattcactTTtTAC	547	138885	138904	
SPC-15867-01	ASO-002261	TAttTcCaattcactTTtTAC	548	138885	138904	
SPC-15869-01	ASO-002276	TAttTcCaattcactTTtTAC	549	138885	138904	
SPC-15871-01	ASO-002228	TATTtCcaattcactTTtTAC	550	138885	138904	

【 図 4 - 2 2 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_007398	前 mRNA 終了 NG_007398	振動データ 対照%
SPC-15882-01	ASO-002255	TATTtccaaattcaCTTTA	551	138885	138904	
SPC-15886-01	ASO-002285	TATTtccaaattcaCTTTA	552	138885	138904	
SPC-15887-01	ASO-002230	TATTtccaaattcaCTTTA	553	138885	138904	
SPC-15890-01	ASO-002256	TATTtccaaattcaCTTTA	554	138885	138904	
SPC-15893-01	ASO-002279	TATTtccaaattcaCTTTA	555	138885	138904	
ASO-002072	ASO-002072	TTAttTccaattcaCTTT	556	138886	138905	>100%
ASO-000755	ASO-000755	TTAttTccaattcaCTTT	557	138886	138905	>100%
ASO-002071	ASO-002071	TTAttTccaattcaCTTT	558	138886	138905	89%
ASO-000760	ASO-000760	TTAttTccaattcaCTTT	559	138886	138905	>100%
ASO-001920	ASO-001920	TTAttTccaattcaCTTT	560	138886	138905	>100%
ASO-002080	ASO-002080	TTAttTccaattcaCTTT	561	138886	138905	>100%
ASO-001927	ASO-001927	TTAttTccaattcaCTTT	562	138886	138905	>100%
ASO-001941	ASO-001941	TTAttTccaattcaCTTT	563	138886	138905	>100%
ASO-002045	ASO-002045	TTAttTccaattcaCTTT	564	138886	138905	>100%
ASO-001934	ASO-001934	TTAttTccaattcaCTTT	565	138886	138905	70%
ASO-002074	ASO-002074	TTAttTccaattcaCTTT	566	138886	138905	89%
ASO-002093	ASO-002093	TTAttTccaattcaCTTT	567	138886	138905	>100%
ASO-002054	ASO-002054	TTAttTccaattcaCTTT	568	138886	138905	81%
ASO-002091	ASO-002091	TTAttTccaattcaCTTT	569	138886	138905	>100%
ASO-002064	ASO-002064	TTAttTccaattcaCTTT	570	138886	138905	>100%
ASO-002066	ASO-002066	TTAttTccaattcaCTTT	571	138886	138905	96%
ASO-002044	ASO-002044	TTAttTccaattcaCTTT	572	138886	138905	>100%
ASO-002047	ASO-002047	TTAttTccaattcaCTTT	573	138886	138905	>100%
ASO-002046	ASO-002046	TTAttTccaattcaCTTT	574	138886	138905	>100%
ASO-000765	ASO-000765	TTAttTccaattcaCTTT	575	138886	138905	>100%
ASO-000770	ASO-000770	TTAttTccaattcaCTTT	576	138886	138905	>100%
ASO-001941-mm1	ASO-002317	ΔTaTtccaaattcaCTTT	577	138886	138905	

【 図 4 - 2 3 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_007398	前 mRNA 終了 NG_007398	振動データ 対照%
ASO-001941-mm2	ASO-002329	TTAttTccaattcaCTTT	578	138886	138905	
ASO-001941-mm3	ASO-002341	TTAttTccaattcaCTTT	579	138886	138905	
ASO-001941-mm4	ASO-002353	ΔTaTtccaaattcaCTTT	580	138886	138905	
ASO-001941-mm5	ASO-002365	TTAttTccaattcaCTTT	581	138886	138905	
ASO-001941-mm6	ASO-002377	TTAttTccaattcaCTTT	582	138886	138905	
SPC-15676-01	ASO-002258	TTTccaattcaCTTT	583	138886	138901	
SPC-15866-01	ASO-002253	TTAttTccaattcaCTTT	584	138886	138905	
SPC-15870-01	ASO-002283	TTAttTccaattcaCTTT	585	138886	138905	
SPC-15875-01	ASO-002262	TTAttTccaattcaCTTT	586	138886	138905	
SPC-15876-01	ASO-002270	TTAttTccaattcaCTTT	587	138886	138905	
SPC-15877-01	ASO-002277	TTAttTccaattcaCTTT	588	138886	138905	
SPC-15881-01	ASO-002247	TTAttTccaattcaCTTT	589	138886	138905	
SPC-15884-01	ASO-002271	TTAttTccaattcaCTTT	590	138886	138905	
SPC-15885-01	ASO-002278	TTAttTccaattcaCTTT	591	138886	138905	
SPC-15889-01	ASO-002248	TTAttTccaattcaCTTT	592	138886	138905	
SPC-15891-01	ASO-002264	TTAttTccaattcaCTTT	593	138886	138905	
SPC-15892-01	ASO-002272	TTAttTccaattcaCTTT	594	138886	138905	
SPC-15894-01	ASO-002286	TTAttTccaattcaCTTT	595	138886	138905	
SPC-15895-01	ASO-002231	TTAttTccaattcaCTTT	596	138886	138905	
SPC-15896-01	ASO-002240	TTAttTccaattcaCTTT	597	138886	138905	

【 図 4 - 2 4 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_007398	前 mRNA 終了 NG_007398	振動データ 対照%
ASO-002020	ASO-002020	AcTTatttccaaattcaCTTTaC	598	138884	138908	18%
ASO-000756	ASO-000756	TTAttTccaattcaCTTT	599	138887	138906	>100%
ASO-001967	ASO-001967	TTAttTccaattcaCTTT	600	138887	138906	>100%
ASO-001955	ASO-001955	TTAttTccaattcaCTTT	601	138887	138906	>100%
ASO-001948	ASO-001948	TTAttTccaattcaCTTT	602	138887	138906	>100%
ASO-002086	ASO-002086	AcTTatttccaaattcaCTTTaC	603	138884	138908	77%
ASO-002029	ASO-002029	AcTTatttccaaattcaCTTTaC	604	138884	138908	29%
ASO-001961	ASO-001961	TTAttTccaattcaCTTT	605	138887	138906	83%
ASO-002095	ASO-002095	AcTTatttccaaattcaCTTTaC	606	138884	138908	18%
ASO-002059	ASO-002059	AcTTatttccaaattcaCTTTaC	607	138884	138908	35%
ASO-002077	ASO-002077	AcTTatttccaaattcaCTTTaC	608	138884	138908	87%
ASO-002021	ASO-002021	AcTTatttccaaattcaCTTTaC	609	138884	138908	24%
ASO-000761	ASO-000761	TTAttTccaattcaCTTT	610	138887	138906	>100%
ASO-002068	ASO-002068	AcTTatttccaaattcaCTTTaC	611	138884	138908	35%
ASO-000766	ASO-000766	TTAttTccaattcaCTTT	612	138887	138906	>100%
ASO-000771	ASO-000771	TTAttTccaattcaCTTT	613	138887	138906	>100%
ASO-001967-mm1	ASO-002294	ΔTaTtccaaattcaCTTT	614	138887	138906	
ASO-001967-mm2	ASO-002306	TTAttTccaattcaCTTT	615	138887	138906	
ASO-001967-mm3	ASO-002318	ΔTaTtccaaattcaCTTT	616	138887	138906	
ASO-001967-mm4	ASO-002330	ΔTaTtccaaattcaCTTT	617	138887	138906	
ASO-001967-mm5	ASO-002342	TTAttTccaattcaCTTT	618	138887	138906	
ASO-001967-mm6	ASO-002354	CTTaTtccaaattcaCTTT	619	138887	138906	
SPC-15675-01	ASO-002250	TTTccaattcaCTTT	620	138887	138902	

【 図 4 - 2 5 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_007398	前 mRNA 終了 NG_007398	振動データ 対照%
ASO-002006	ASO-002006	CTTAttccaattcaCTTT	621	138888	138907	0%
ASO-000757	ASO-000757	CTTAttccaattcaCTTT	622	138888	138907	>100%
ASO-002017	ASO-002017	CTTAttccaattcaCTTT	623	138888	138907	>100%
ASO-001928	ASO-001928	CTTAttccaattcaCTTT	624	138888	138907	>100%
ASO-001968	ASO-001968	ACTTatttccaaattcaCTTT	625	138888	138908	>100%
ASO-001921	ASO-001921	CTTAttccaattcaCTTT	626	138888	138907	>100%
ASO-001989	ASO-001989	CTTAttccaattcaCTTT	627	138888	138907	0%
ASO-001942	ASO-001942	CTTAttccaattcaCTTT	628	138888	138907	>100%
ASO-000128	ASO-000128	TTTccaattcaCTTT	629	138888	138902	
ASO-001935	ASO-001935	CTTAttccaattcaCTTT	630	138888	138907	>100%
ASO-000013	ASO-000013	ATTccaattcaCTTT	631	138888	138903	91%
ASO-002002	ASO-002002	CTTAttccaattcaCTTT	632	138888	138907	>100%
ASO-000762	ASO-000762	CTTAttccaattcaCTTT	633	138888	138907	>100%
ASO-002010	ASO-002010	CTTAttccaattcaCTTT	634	138888	138907	>100%
ASO-002005	ASO-002005	CTTAttccaattcaCTTT	635	138888	138907	>100%
ASO-001998	ASO-001998	CTTAttccaattcaCTTT	636	138888	138907	75%
ASO-002001	ASO-002001	CTTAttccaattcaCTTT	637	138888	138907	>100%
ASO-001994	ASO-001994	CTTAttccaattcaCTTT	638	138888	138907	45%
ASO-002013	ASO-002013	CTTAttccaattcaCTTT	639	138888	138907	30%
ASO-002009	ASO-002009	CTTAttccaattcaCTTT	640	138888	138907	>100%
ASO-000762	ASO-000762	CTTAttccaattcaCTTT	641	138888	138907	>100%
ASO-000772	ASO-000772	CTTAttccaattcaCTTT	642	138888	138907	>100%
BMT-214296	BMT-214296	CTTAttccaattcaCTTT	643	138888	138907	
ASO-000013-mm1	ASO-002366	ΔTTccaattcaCTTT	644	138888	138903	
ASO-000013-mm2	ASO-002378	ATTccaattcaCTTT	645	138888	138903	
ASO-000013-mm3	ASO-002295	ATTccaattcaCTTT	646	138888	138903	

【 図 4 - 2 6 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_007398	前 mRNA 終了 NG_007398	振動データ 対照%
ASO-00013-mm4	ASO-002307	ATTTccagattcaCTT	647	138888	138903	
ASO-00013-mm5	ASO-002319	ATTTccaattcaCTA	648	138888	138903	
ASO-00013-mm6	ASO-002331	ATTccagattcaCTG	649	138888	138903	
ASO-000898	ASO-000898	ATTccaattcaCTT	650	138888	138903	
ASO-001942-mm1	ASO-002363	CTTAttccagattcaCTT	651	138888	138907	
ASO-001942-mm2	ASO-002375	CTTAttccaattcaCTG	652	138888	138907	
ASO-001942-mm3	ASO-002292	CTTAttccaattcaCTT	653	138888	138907	
ASO-001942-mm4	ASO-002304	CTTAttccagattcaCTA	654	138888	138907	
ASO-001942-mm5	ASO-002316	CTTAttccagattcaCTT	655	138888	138907	
ASO-001942-mm6	ASO-002328	CTTAttccagattcaCTT	656	138888	138907	
SPC-15674-01	ASO-002242	ATTccaattcaCTT	657	138888	138903	
ASO-002004	ASO-002004	CTTAttccaattcaCT	658	138889	138907	>100%
ASO-002012	ASO-002012	CTTAttccaattcaCT	659	138889	138907	>100%
ASO-001962	ASO-001962	ACTTAttccaattcaCT	660	138889	138908	>100%
ASO-001956	ASO-001956	ACTTAttccaattcaCT	661	138889	138908	>100%
ASO-001949	ASO-001949	ACTTAttccaattcaCT	662	138889	138908	98%
ASO-001987	ASO-001987	CTTAttccaattcaCT	663	138889	138907	>100%
ASO-001991	ASO-001991	CTTAttccaattcaCT	664	138889	138907	>100%
ASO-001995	ASO-001995	CTTAttccaattcaCT	665	138889	138907	>100%
ASO-001992	ASO-001992	CTTAttccaattcaCT	666	138889	138907	>100%
ASO-002000	ASO-002000	CTTAttccaattcaCT	667	138889	138907	>100%
ASO-001996	ASO-001996	CTTAttccaattcaCT	668	138889	138907	93%

【 図 4 - 2 7 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_007398	前 mRNA 終了 NG_007398	振動データ 対照%
ASO-002008	ASO-002008	CTTAttccaattcaCT	669	138889	138907	>100%
ASO-002015	ASO-002015	CTTAttccaattcaCT	670	138889	138907	>100%
ASO-002016	ASO-002016	CTTAttccaattcaCT	671	138889	138907	>100%
ASO-001986	ASO-001986	CTTAttccaattcaCT	672	138889	138907	>100%
ASO-001995-mm1	ASO-002343	CTTAttccagattcaCT	673	138889	138907	
ASO-001995-mm2	ASO-002355	CTTAttccaattcaCT	674	138889	138907	
ASO-001995-mm3	ASO-002367	CTTAttccaattcaCT	675	138889	138907	
ASO-001995-mm4	ASO-002379	CTTAttccagattcaCT	676	138889	138907	
ASO-001995-mm5	ASO-002296	CTTAttccaattcaCT	677	138889	138907	
ASO-001995-mm6	ASO-002308	CTTAttccagattcaCT	678	138889	138907	
SPC-15673-01	ASO-002233	TAttccaattcaCT	679	138889	138904	
ASO-002003	ASO-002003	CTTAttccaattcaCT	680	138890	138907	>100%
ASO-002007	ASO-002007	CTTAttccaattcaCT	681	138890	138907	>100%
ASO-002011	ASO-002011	CTTAttccaattcaCT	682	138890	138907	>100%
ASO-001988	ASO-001988	CTTAttccaattcaCT	683	138890	138907	>100%
ASO-001999	ASO-001999	CTTAttccaattcaCT	684	138890	138907	>100%
ASO-001993	ASO-001993	CTTAttccaattcaCT	685	138890	138907	6%
ASO-001997	ASO-001997	CTTAttccaattcaCT	686	138890	138907	>100%
ASO-001997-mm1	ASO-002320	CTTAttccagattcaCT	687	138890	138907	
ASO-001997-mm2	ASO-002332	CTTAttccagattcaCT	688	138890	138907	
ASO-001997-mm3	ASO-002344	CTTAttccaattcaCT	689	138890	138907	
ASO-001997-mm4	ASO-002356	CTTAttccagattcaCT	690	138890	138907	

【 図 4 - 2 8 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_007398	前 mRNA 終了 NG_007398	振動データ 対照%
ASO-001997-mm5	ASO-002368	CTTAttccagattcaCT	691	138890	138907	
ASO-001997-mm6	ASO-002380	CTTAttccaattcaCT	692	138890	138907	
SPC-15672-01	ASO-002288	TAttccaattcaCT	693	138890	138905	
SPC-15671-01	ASO-002280	TAttccaattcaCT	694	138891	138906	
SPC-15670-01	ASO-002273	CTTAttccaattcaCT	695	138892	138907	
SPC-15669-01	ASO-002265	ACTTAttccaattcaCT	696	138893	138908	
ASO-000139	ASO-000139	AACTTAttccaattcaCT	697	138894	138909	
SPC-15668-01	ASO-002257	AACTTAttccaattcaCT	698	138894	138909	
SPC-15667-01	ASO-002249	TAACTTAttccaattcaCT	699	138895	138910	
SPC-15666-01	ASO-002241	ATACTTAttccaattcaCT	700	138896	138911	
ASO-000118	ASO-000118	AACTTAttccaattcaCT	701	138897	138912	
SPC-15665-01	ASO-002232	AACTTAttccaattcaCT	702	138897	138912	
ASO-000101	ASO-000101	TAACTTAttccaattcaCT	703	138898	138913	
SPC-15664-01	ASO-002227	TAACTTAttccaattcaCT	704	138898	138913	
ASO-000148	ASO-000148	GTAACTTAttccaattcaCT	705	138899	138914	
ASO-000184	ASO-000184	TAACTTAttccaattcaCT	706	138899	138913	
ASO-000112	ASO-000112	GTAACTTAttccaattcaCT	707	138900	138914	
ASO-000170	ASO-000170	AGTAACTTAttccaattcaCT	708	138900	138915	
ASO-000154	ASO-000154	GAGTAACTTAttccaattcaCT	709	138901	138916	
ASO-000125	ASO-000125	AGTAACTTAttccaattcaCT	710	138901	138915	
ASO-000167	ASO-000167	GAGTAACTTAttccaattcaCT	711	138902	138916	
ASO-000134	ASO-000134	AGGTAATAttccaattcaCT	712	138902	138917	
ASO-000175	ASO-000175	CAGGTAATAttccaattcaCT	713	138903	138918	
ASO-000178	ASO-000178	AGGTAATAttccaattcaCT	714	138903	138917	
ASO-000138	ASO-000138	CAGGTAATAttccaattcaCT	715	138904	138918	

【 図 4 - 2 9 】

Figure 4 続き

オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	配列番号	前 mRNA 開始 NG_007398	前 mRNA 終了 NG_007398	振動データ 対照%
ASO-000171	ASO-000171	TCAGagtaataaCTT	716	138904	138919	
ASO-000236	ASO-000236	ATCagagtaataaCTT	717	138905	138920	
ASO-000127	ASO-000127	TCAGagtaataaCTT	718	138905	138919	
ASO-000177	ASO-000177	CAGagtaataaCTT	719	138905	138918	
ASO-000238	ASO-000238	AACTcagagtaataaCT	720	138906	138921	
ASO-000222	ASO-000222	TAAcagagtaataaCT	721	138907	138922	
ASO-000307	ASO-000307	AACTcagagtaataaCT	722	138907	138921	
ASO-000204	ASO-000204	TAAcagagtaataaCT	723	138908	138923	
ASO-000330	ASO-000330	TAAcagagtaataaCT	724	138908	138922	
ASO-000326	ASO-000326	TTTAAcagagtaataaCT	725	138909	138924	
ASO-000249	ASO-000249	TTTAAcagagtaataaCT	726	138910	138924	
ASO-000202	ASO-000202	TTTAAcagagtaataaCT	727	138886	138905	>100%
ASO-000206	ASO-000206	TAttTCCAaattcaCTTT	728	138886	138905	>100%
ASO-000204	ASO-000204	TAttTCCAaattcaCTTT	729	138886	138905	>100%
ASO-0002049	ASO-0002049	ACTTAttccaattcaCTTTA C	730	138884	138908	29%
ASO-0002019	ASO-0002019	ActTAttccaattcaCTTTA C	731	138884	138908	18%

"mm" はミスマッチを示す。ミスマッチ塩基列を太字、下線、斜体およびハイライトする。

【 図 5 - 1 】

Figure 5

ASO番号	ASO配列	配列番号	前mRNA開始 NG_007398	前mRNA終了 NG_007398	インビボ急性耐性スコア	脳タウmRNA残存%
ASO-00013	ATTccaattcaCTT	686	138888	138903	0	29
ASO-000118	AATaactttattCCA	773	138897	138912	0.17	59
ASO-000125	AGTaataacttATT	782	138901	138915		
ASO-000128	TTTccaattcaCTT	684	138888	138902		
ASO-000134	AGAgtaataactTAT	784	138902	138917		
ASO-000170	AGTaataactttaTTT	780	138900	138915		
ASO-000178	AGAgtaataactTTA	786	138903	138917		
ASO-000204	TTAatcagagtaTAA	795	138908	138923		
ASO-000249	TTTaatcagagtaAAT	798	138910	138924		
ASO-000307	AATcagagtaaac	794	138907	138921		
ASO-000326	TTTaatcagagtaATA	797	138909	138924		
ASO-000330	TAAatcagagtaTAA	796	138908	138922		
ASO-000388	ATAgctactctggTGA	250	136650	136665	20	
ASO-000389	TAGccctaagtcca	53	135744	135759	3.83	32
ASO-000390	TAGctactctggTGA	251	136650	136664	16.67	
ASO-000394	AAGatacatgctCCT	258	136695	136710	11.67	
ASO-000396	TACatgctctTTT	256	136693	136706	20	
ASO-000411	CCCTaaagtccaCAG	51	135743	135756	13.33	
ASO-000435	TTAgccctaagtCCC	69	135745	135760	7.17	
ASO-000442	TAGccctaagtTCC	71	135746	135759	10	
ASO-000447	TCAatgctactctGGT	255	136652	136667	13.67	
ASO-000449	AAGaggacacaagtCCT	84	135776	135791	3.83	
ASO-000451	AAGcaattcaagaTAC	262	136704	136719	7.33	
ASO-000468	ACCatgcttagGCT	365	137856	137871	18	
ASO-000478	GTCcaatctgGCT	285	136905	136920	16	
ASO-000527	TAGcaaacaggatACA	392	138098	138113	8.33	
ASO-000540	CCTtaattcaccCTC	153	136053	136068	0.33	29

【 図 5 - 2 】

Figure 5 続き

ASO番号	ASO配列	配列番号	前mRNA開始 NG_007398	前mRNA終了 NG_007398	インビボ急性耐性スコア	脳タウmRNA残存%
ASO-000543	CATgattggggcCTA	417	138403	138418	20	
ASO-000555	CTTaattcaccCTC	154	136053	136067	4.17	38
ASO-000558	GAActggtagccCTA	76	135752	135767	17.67	
ASO-000566	CCTtaattcaccCTT	202	136054	136068	0	42
ASO-000581	ACTggtagccctAAA	74	135750	135765	20	
ASO-000603	TCCcttaattcACC	227	136056	136070	0	48
ASO-000614	CAAacaggatacAGT	390	138096	138110	10.67	
ASO-000635	CCCaaccatgactCT	370	137862	137877	2.33	71
ASO-000642	CCCTaattcaCCC	223	136055	136069	0.7	30
ASO-000662	CCCTaattcaccCTT	201	136054	136069	0.5	20
ASO-000753	ATTCcaattcactTTAC	471	138884	138903	2.33	29
ASO-000755	TTATtccaattcaCTTT	587	138886	138905	1.67	18
ASO-000756	TTTATtccaattcACTTT	644	138887	138906	0.83	10
ASO-000757	CTTtattccaattcaCTT	677	138888	138907	0.17	6
ASO-000758	ATtccaattcactTTAC	485	138884	138903	0.17	49
ASO-000759	TATtccaattcactTTA	548	138885	138904	0.33	77
ASO-000760	TTAttccaattcactTTT	589	138886	138905	0	63
ASO-000761	TTTAttccaattcactTTT	655	138887	138906	0.33	44
ASO-000762	CTTattccaattcaCTT	688	138888	138907	0	30
ASO-000829	AAGatgaattgctCTC	7	134950	134965	4.67	28
ASO-000830	TACTagccaccctATC	28	134974	134989	6.67	
ASO-000898	ATtccaattcaCTT	705	138888	138903		
ASO-001778	TTAgccctaagtccaGGT	46	135741	135760	20	
ASO-001779	TAGccctaagtccaGGT	43	135740	135759	20	
ASO-001780	GTTAgccctaagtccaAGG	49	135742	135761	20	
ASO-001781	GGTAgccctaagtccaCAG	52	135743	135762	20	
ASO-001782	TGGTAgccctaagtccaCCA	67	135744	135763	12.33	
ASO-001919	ATTCcaattcactTTAC	474	138884	138903	4.33	16

【 図 5 - 3 】

Figure 5 続き

ASO番号	ASO配列	配列番号	前mRNA開始 NG_007398	前mRNA終了 NG_007398	インビボ急性耐性スコア	脳タウmRNA残存%
ASO-001920	TTATtccaattcaCTTT	590	138886	138905	1.5	27
ASO-001921	CTTtattccaattcaCTT	681	138888	138907	1	10
ASO-001925	TAGccctaagtcca	56	135744	135759	11	
ASO-001926	ATTCcaattcactTTAC	482	138884	138903	0.67	46
ASO-001927	TTATtccaattcaCTTT	592	138886	138905	1.17	44
ASO-001928	CTTtattccaattcaCTT	679	138888	138907	1.33	6
ASO-001933	ATTCcaattcactTTAC	473	138884	138903	0.83	20
ASO-001934	TtATtccaattcaCTTT	595	138886	138905	0.67	43
ASO-001935	CTTtattccaattcaCTT	685	138888	138907	1.33	19
ASO-001940	ATTCcaattcactTTAC	472	138884	138903	0.29	22
ASO-001941	TtATtccaattcaCTTT	593	138886	138905	2	14
ASO-001942	CTTtattccaattcaCTT	683	138888	138907	2	16
ASO-001947	TATtccaattcaCTTTA	533	138885	138904	3.83	26
ASO-001948	TTTtattccaattcaCTTT	647	138887	138906	0.33	11
ASO-001953	TAGccctaagtcca	60	135744	135759	4	
ASO-001954	TATtccaattcaCTTTA	532	138885	138904	1.17	23
ASO-001955	TTTtattccaattcaCTTT	646	138887	138906	0.5	19
ASO-001956	ACTTtattccaattcaCTT	716	138889	138908	0	15
ASO-001960	TtATtccaattcaCTTTA	538	138885	138904	5	23
ASO-001961	TtATtccaattcaCTTTA	650	138887	138906	2.17	25
ASO-001962	ACTTtattccaattcaCTT	715	138889	138908	2	9
ASO-001966	TATtccaattcaCTTTA	535	138885	138904	4.33	23
ASO-001967	TtATtccaattcaCTTTA	645	138887	138906	1	22
ASO-001968	ACTTtattccaattcaCTT	680	138888	138907	0.67	19
ASO-001995	CTTtattccaattcaCTT	720	138889	138907	0.17	57
ASO-001997	CTTtattccaattcaCTT	745	138890	138907		
ASO-001998	CTTtattccaattcaCTT	691	138888	138907		
ASO-002002	CTTtattccaattcaCTT	687	138888	138907		

【 図 5 - 4 】

Figure 5 続き

ASO番号	ASO配列	配列番号	前mRNA開始 NG_007398	前mRNA終了 NG_007398	インビボ急性耐性スコア	脳タウmRNA残存%
ASO-002005	CTTtattccaattcaCTT	690	138888	138907		
ASO-002007	CTTtattccaattcaCTT	740	138890	138907	0.13	26
ASO-002008	CTTtattccaattcaCTT	724	138889	138907	0.67	34
ASO-002009	CTTtattccaattcaCTT	695	138888	138907		
ASO-002010	CTTtattccaattcaCTT	689	138888	138907		
ASO-002011	CTTtattccaattcaCTT	741	138890	138907		
ASO-002012	CTTtattccaattcaCTT	714	138889	138907	0	36
ASO-002016	CTTtattccaattcaCTT	726	138889	138907		
ASO-002022	TTATtccaattcaCTTT	799	138886	138905		
ASO-002023	ATTCcaattcactTTAC	484	138884	138903		
ASO-002024	TTAttccaattcaCTTT	801	138886	138905		
ASO-002025	TATtccaattcaCTTTA	536	138885	138904		
ASO-002026	TtATtccaattcaCTTTA	800	138886	138905		
ASO-002027	TATtccaattcaCTTTA	543	138885	138904		
ASO-002028	TATtccaattcaCTTTA	545	138885	138904		
ASO-002033	TATtccaattcaCTTTA	537	138885	138904		
ASO-002034	ATTCcaattcactTTAC	476	138884	138903	0.83	34
ASO-002035	TATtccaattcaCTTTA	528	138885	138904	0.5	42
ASO-002036	ATTCcaattcactTTAC	477	138884	138903	0.33	34
ASO-002037	ATTCcaattcactTTAC	479	138884	138903		
ASO-002038	ATTCcaattcactTTAC	487	138884	138903	0	42
ASO-002043	ATTCcaattcactTTAC	467	138884	138903	0.83	48
ASO-002044	TTATtccaattcaCTTT	602	138886	138905		
ASO-002045	TTATtccaattcaCTTT	594	138886	138905		
ASO-002046	TtATtccaattcaCTTTA	604	138886	138905		
ASO-002047	TTATtccaattcaCTTT	603	138886	138905		
ASO-002048	TATtccaattcaCTTTA	529	138885	138904	1.17	59
ASO-002053	TATtccaattcaCTTTA	530	138885	138904	1	47

【 図 5 - 5 】

Figure 5 続き

ASO番号	ASO配列	配列番号	前mRNA開始 NG_007398	前mRNA終了 NG_007398	インビボ急性耐性スコア	脳タウmRNA残存%
ASO-002054	TTaTtTccaattcaCTTT	598	138886	138905		
ASO-002055	TAtTtCcaattcaCTTTA	527	138885	138904		
ASO-002056	TAttTccaattcaCTTTA	539	138885	138904		
ASO-002057	ATTTccaattcaCTTTAC	481	138884	138903		
ASO-002058	ATTTccaattcaCTTTAC	480	138884	138903	0.83	39
ASO-002062	ATTTccaattcaCTTTAC	469	138884	138903		
ASO-002063	TAtTtCcaattcaCTTTA	540	138885	138904		
ASO-002064	TTaTtTccaattcaCTTT	600	138886	138905		
ASO-002065	ATTTccaattcaCTTTAC	486	138884	138903	0	36
ASO-002066	TTaTtTccaattcaCTTT	601	138886	138905		
ASO-002067	TAtTtCcaattcaCTTTA	531	138885	138904		
ASO-002071	TTaTtTccaattcaCTTT	588	138886	138905	1	33
ASO-002072	TTaTtTccaattcaCTTT	586	138886	138905		
ASO-002073	TAtTtCcaattcaCTTTA	542	138885	138904		
ASO-002074	TTaTtTccaattcaCTTT	596	138886	138905		
ASO-002075	TAtTtCcaattcaCTTTA	544	138885	138904		
ASO-002076	ATTTccaattcaCTTTAC	468	138884	138903	0.33	60
ASO-002077	ActttattccaattcaCTTTAC	653	138884	138908		
ASO-002080	TTaTtTccaattcaCTTT	591	138886	138905	0	36
ASO-002081	TAtTtCcaattcaCTTTA	534	138885	138904		
ASO-002082	ATTTccaattcaCTTTAC	470	138884	138903	0.13	31
ASO-002083	TAttTccaattcaCTTTA	547	138885	138904	0.83	54
ASO-002084	ATTTccaattcaCTTTAC	478	138884	138903	0.33	52
ASO-002085	TAtTtCcaattcaCTTTA	546	138885	138904		
ASO-002086	ActTtattccaattcaCTTTA C	648	138884	138908		
ASO-002089	TATTccaattcaCTTTA	541	138885	138904		
ASO-002090	ATTTccaattcaCTTTAC	466	138884	138903		
ASO-002091	TTaTtTccaattcaCTTT	599	138886	138905		

【 図 5 - 6 】

Figure 5 続き

ASO番号	ASO配列	配列番号	前mRNA開始 NG_007398	前mRNA終了 NG_007398	インビボ急性耐性スコア	脳タウmRNA残存%
ASO-002092	ATTTccaattcaCTTTAC	483	138884	138903	0.48	14
ASO-002093	TTaTtTccaattcaCTTT	597	138886	138905		
ASO-002094	ATTTccaattcaCTTTAC	475	138884	138903	0.5	61

【 図 6 - 1 】

Figure 6.

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前mRNA開始 NG_007398	前mRNA終了 NG_007398	mRNA開始 NM_016835	タウ/チュロリン阻害%
4	ASO-001167	ASO-001167	AAAgatgaattgctcTT A	134947	134966	2787	77
5	ASO-001168	ASO-001168	GAAgatgaattgctcCT T	134948	134967	2788	89
6	ASO-001169	ASO-001169	GGAAgatgaattgctcT T	134949	134968	2789	99
7	ASO-000829	ASO-000829	AAAgatgaattgctcCTC	134950	134965	2790	99
8	ASO-001170	ASO-001170	TGGAagatgaattgctcCT C	134950	134969	2790	100
9	ASO-001171	ASO-001171	TTGaaagatgaattgctcT T	134951	134970	2791	97
10	ASO-001172	ASO-001172	TTTgaaagatgaattgctcT C	134952	134971	2792	96
11	ASO-001173	ASO-001173	ATTTgaaagatgaattgctcT G	134953	134972	2793	43
12	ASO-001174	ASO-001174	AAATtggaaagatgaattgctcT T	134954	134973	2794	0
13	ASO-001175	ASO-001175	CAAttggaagatgaattgctcT T	134955	134974	2795	3
14	ASO-001176	ASO-001176	TCaattggaagatgaattgctcT T	134956	134975	2796	36
15	ASO-001177	ASO-001177	ATCaattggaagatgaattgctcT A	134957	134976	2797	45
16	ASO-001178	ASO-001178	CATcaattggaagatgaattgctcT A	134958	134977	2798	26
17	ASO-001179	ASO-001179	CCATcaattggaagatgaattgctcT A	134959	134978	2799	79
18	ASO-001180	ASO-001180	CCCaattggaagatgaattgctcT G	134960	134979	2800	77
19	ASO-001181	ASO-001181	ACCaattggaagatgaattgctcT T	134961	134980	2801	82
20	ASO-001182	ASO-001182	CACcaattggaagatgaattgctcT A	134962	134981	2802	85

【 図 6 - 2 】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前mRNA開始 NG_007398	前mRNA終了 NG_007398	mRNA開始 NM_016835	タウ/チュロリン阻害%
21	ASO-001183	ASO-001183	CCAccatcaattggaAA G	134963	134982	2803	97
22	ASO-001184	ASO-001184	CCCaccatcaattggaAA A	134964	134983	2804	89
23	ASO-001062	ASO-001062	GCCcaccatcaattggaAA A	134965	134984	2805	79
24	ASO-001063	ASO-001063	TAGccaccatcaattggaAA G	134967	134986	2807	98
25	ASO-001064	ASO-001064	CTAgccaccatcaattggaAA G	134968	134987	2808	99
26	ASO-001065	ASO-001065	ACTagccaccatcaattggaAA T	134969	134988	2809	100
27	ASO-001066	ASO-001066	TACTagccaccatcaattggaAA T	134970	134989	2810	94
28	ASO-000830	ASO-000830	TACTagccaccatcaattggaAA ATC	134974	134989	2814	99
29	ASO-000260	ASO-000260	CCCTcttcaatgaAA GGA	135077	135092	2917	99
30	ASO-000305	ASO-000305	TGCctctggaacCC	135171	135186	3011	99
31	ASO-000304	ASO-000304	TTCaactcttgTTG	135194	135209	3034	96
32	ASO-000324	ASO-000324	CACaaggtgacCAT	135242	135257	3082	99
33	ASO-000268	ASO-000268	CGTcaactcaacCAA	135251	135266	3091	99
34	ASO-000223	ASO-000223	GCCcaccaggaacGGC	135441	135456	3281	8
35	ASO-000224	ASO-000224	CAGcttgcctcCTT	135533	135548	3373	99
36	ASO-000319	ASO-000319	ATCaaggtcagcT	135585	135600	3425	99
37	ASO-000208	ASO-000208	CCTcagaactcaATA	135690	135705	3530	97
38	ASO-000689	ASO-000689	AAAgctccaggtcTGC	135737	135752	3577	99
39	ASO-000434	ASO-000434	CTAagctccaggtcTCT	135739	135754	3579	99
40	ASO-000409	ASO-000409	TAAagctccaggtcTCT	135739	135753	3579	98
41	ASO-000432	ASO-000432	CCTAagctccaggtcTCT	135740	135755	3580	98
42	ASO-000391	ASO-000391	TAAagctccaggtcTCT	135740	135753	3580	98
43	ASO-001779	ASO-001779	TAGcctcaaggtccagGT C	135740	135759	3580	100
44	ASO-000899	ASO-000899	CTAagctccaggtcTCT	135740	135754	3580	6

【図6-3】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前mRNA開始 NG_0073 98	前mRNA A修了 NG_0073 98	mRNA開始 NM_016 835	タウ/チュービリン阻害%
45	ASO-000398	ASO-000398	CCCTaaagtcccaGTT	135741	135756	3581	85
46	ASO-001778	ASO-001778	TTAGcctaaagtcccaGGT	135741	135760	3581	100
47	ASO-000414	ASO-000414	GCCTaaagtcccaAGG	135742	135757	3582	58
48	ASO-000403	ASO-000403	CCCTaaagtcccaAGG	135742	135756	3582	45
49	ASO-001780	ASO-001780	GTTAgcctaaagtcccaAGG	135742	135761	3582	100
50	ASO-000433	ASO-000433	GCCTaaagtcccaGAG	135743	135757	3583	99
51	ASO-000411	ASO-000411	CCCTaaagtcccaGAG	135743	135756	3583	99
52	ASO-001781	ASO-001781	GGTAgcctaaagtcccaAGG	135743	135762	3583	100
53	ASO-000389	ASO-000389	TAGCctaaagtcccaCCA	135744	135759	3584	100
54	ASO-001939	ASO-001939	TAGCctaaagtcccaCCA	135744	135759	3584	100
55	ASO-001932	ASO-001932	TAGCctaaagtcccaCCA	135744	135759	3584	100
56	ASO-001925	ASO-001925	TAGCctaaagtcccaCCA	135744	135759	3584	100
57	ASO-001924	ASO-001924	TAGCctaaagtcccaCCA	135744	135759	3584	100
58	ASO-001952	ASO-001952	TAGCctaaagtcccaCCA	135744	135759	3584	100
59	ASO-001931	ASO-001931	TAGCctaaagtcccaCCA	135744	135759	3584	100
60	ASO-001953	ASO-001953	TAGCctaaagtcccaCCA	135744	135759	3584	100
61	ASO-001945	ASO-001945	TAGCctaaagtcccaCCA	135744	135759	3584	100
62	ASO-001946	ASO-001946	TAGCctaaagtcccaCCA	135744	135759	3584	99
63	ASO-001971	ASO-001971	TAGCctaaagtcccaCCA	135744	135759	3584	100
64	ASO-001938	ASO-001938	TAGCctaaagtcccaCCA	135744	135759	3584	100
65	ASO-001959	ASO-001959	TAGCctaaagtcccaCCA	135744	135759	3584	100
66	ASO-001965	ASO-001965	TAGCctaaagtcccaCCA	135744	135759	3584	99
67	ASO-001782	ASO-001782	TGGTAgcctaaagtcccaAGG	135744	135763	3584	99
68	ASO-000900	ASO-000900	TAGCctaaagtcccaCCA	135744	135759	3584	0
69	ASO-000435	ASO-000435	TTAGcctaaagtcccaCCC	135745	135760	3585	98
70	ASO-000423	ASO-000423	GTTAgcctaaagtcccaTCC	135746	135761	3586	99

【図6-4】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前mRNA開始 NG_0073 98	前mRNA A修了 NG_0073 98	mRNA開始 NM_016 835	タウ/チュービリン阻害%
71	ASO-000442	ASO-000442	TAGCctaaagtcccaTCC	135746	135759	3586	91
72	ASO-000416	ASO-000416	GGTAgcctaaagtcccaAGG	135747	135762	3587	100
73	ASO-000438	ASO-000438	GTTAgcctaaagtcccaAGG	135748	135761	3588	98
74	ASO-000581	ASO-000581	ACTgggtgacctcaAAA	135750	135765	3590	100
75	ASO-000639	ASO-000639	AACTgggtgacctcaAAA	135751	135766	3591	100
76	ASO-000558	ASO-000558	GAACTgggtgacctcaAAA	135752	135767	3592	100
77	ASO-000597	ASO-000597	GAACTgggtgacctcaAAA	135754	135769	3594	100
78	ASO-000245	ASO-000245	TACAagagaacctGGT	135760	135775	3600	100
79	ASO-000897	ASO-000897	CAAGgacctcaAAA	135770	135785	3610	4
80	ASO-000185	ASO-000185	GGCaaagacctcaAAA	135772	135787	3612	99
81	ASO-000426	ASO-000426	AGGcacaagacctcaAAA	135774	135788	3614	52
82	ASO-000417	ASO-000417	GAGcacaagacctcaAAA	135774	135789	3614	39
83	ASO-000393	ASO-000393	AGAGgacaagacctcaAAA	135775	135790	3615	75
84	ASO-000449	ASO-000449	AAGgacaagacctcaAAA	135776	135791	3616	95
85	ASO-000406	ASO-000406	AGAGgacaagacctcaAAA	135776	135790	3616	78
86	ASO-000392	ASO-000392	CCAGgacaagacctcaAAA	135778	135793	3618	99
87	ASO-000444	ASO-000444	CAAGgacaagacctcaAAA	135778	135792	3618	99
88	ASO-000443	ASO-000443	CCCAgagacaagacctcaAAA	135779	135794	3619	100
89	ASO-000450	ASO-000450	CAAGgacaagacctcaAAA	135779	135792	3619	99
90	ASO-000258	ASO-000258	CTCCAagagacaagacctcaAAA	135781	135796	3621	97
91	ASO-000205	ASO-000205	TGGccctggagaagGAC	135876	135891	3716	90
92	ASO-000213	ASO-000213	GGTgagctggagaagGAC	135984	135999	3823	100
93	ASO-000293	ASO-000293	GTGagctggagaagGAC	135984	135998	3823	100
94	ASO-000321	ASO-000321	TGGgagctggagaagGAC	135985	136000	3824	99
95	ASO-000226	ASO-000226	CTCagtggagaagGAC	136040	136055	3879	90
96	ASO-000682	ASO-000682	AATtaccctcaGTA	136049	136064	3888	79
97	ASO-000673	ASO-000673	TTAattaccctcaGTA	136051	136066	3890	84
98	ASO-000578	ASO-000578	CTTAattaccctcaGTA	136052	136067	3891	99

【図6-5】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前mRNA開始 NG_0073 98	前mRNA A修了 NG_0073 98	mRNA開始 NM_016 835	タウ/チュービリン阻害%
99	ASO-000540-21	ASO-002180	CCTTaattcaCctCA	136052	136068	3891	98
100	ASO-000540-22	ASO-002192	CCTTaattcaCctCA	136052	136068	3891	99
101	ASO-000540-23	ASO-002109	CCTTaattcaCctCA	136052	136068	3891	97
102	ASO-000540-24	ASO-002121	TcCCTaattcaCctCA	136054	136070	3893	98
103	ASO-000540-25	ASO-002133	TcCCTaattcaCctCA	136054	136070	3893	97
104	ASO-000540-26	ASO-002145	TcCCTaattcaCctCA	136054	136070	3893	90
105	ASO-000540-27	ASO-002157	TcCCTaattcaCctCA	136054	136070	3893	95
106	ASO-000540-28	ASO-002169	TcCCTaattcaCctCA	136054	136070	3893	91
107	ASO-000540-29	ASO-002181	TCCtTaattcaCctCA	136054	136070	3893	92
108	ASO-000540-3	ASO-002154	CCCTaattcaCctCA	136053	136069	3892	97
109	ASO-000540-42	ASO-002147	CCCTaattcaCctCA	136052	136069	3891	99
110	ASO-000540-43	ASO-002159	CCCTaattcaCctCA	136052	136069	3891	97
111	ASO-000540-44	ASO-002171	CCCTaattcaCctCA	136052	136069	3891	96
112	ASO-000540-45	ASO-002183	CCCTaattcaCctCA	136052	136069	3891	98
113	ASO-000540-46	ASO-002195	CCCTaattcaCctCA	136052	136069	3891	91
114	ASO-000540-47	ASO-002196	CCCTaattcaCctCA	136052	136069	3891	100
115	ASO-000540-48	ASO-002200	CCCTaattcaCctCA	136052	136069	3891	95

【図6-6】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前mRNA開始 NG_0073 98	前mRNA A修了 NG_0073 98	mRNA開始 NM_016 835	タウ/チュービリン阻害%
116	ASO-000540-49	ASO-002204	CCCTaattcaCctCA	136052	136069	3891	82
117	ASO-000540-5	ASO-002178	CCCTaattcaCctCA	136053	136069	3892	97
118	ASO-000540-50	ASO-002208	CCCTaattcaCctCA	136052	136069	3891	93
119	ASO-000540-51	ASO-002212	CCCTaattcaCctCA	136052	136069	3891	87
120	ASO-000540-52	ASO-002216	TcCCTaattcaCctCA	136053	136070	3892	97
121	ASO-000540-53	ASO-002220	TcCCTaattcaCctCA	136053	136070	3892	99
122	ASO-000540-54	ASO-002224	TcCCTaattcaCctCA	136053	136070	3892	85
123	ASO-000540-55	ASO-002197	TCCtTaattcaCctCA	136053	136070	3892	99
124	ASO-000540-69	ASO-002222	TCCtTaattcaCctCA	136052	136070	3891	97
125	ASO-000540-70	ASO-002226	TCCtTaattcaCctCA	136052	136070	3891	93
126	ASO-000540-71	ASO-002199	TCCtTaattcaCctCA	136052	136070	3891	83
127	ASO-000540-72	ASO-002203	TCCtTaattcaCctCA	136052	136070	3891	78
128	ASO-000540-73	ASO-002207	TCCtTaattcaCctCA	136052	136070	3891	58
129	ASO-000540-74	ASO-002211	TCCtTaattcaCctCA	136052	136070	3891	26
130	ASO-000540-75	ASO-002215	TCCtTaattcaCctCA	136052	136070	3891	84
131	ASO-000540-76	ASO-002219	TCCtTaattcaCctCA	136052	136070	3891	44
132	ASO-000540-77	ASO-002223	TCCtTaattcaCctCA	136052	136070	3891	30

【 図 6 - 7 】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前 mRNA 開始 NG_0073 98	前 mRNA A 修了 NG_0073 98	mRNA 開始 NM_016 835	タウ / チュービリン阻害%
133	ASO-000540-8	ASO-002119	CCCTaatttaccctc	136053	136069	3892	98
134	ASO-000540-9	ASO-002131	CCCTaatttaccctc	136053	136069	3892	96
135	TBD-mm10	ASO-002382	CCttagttaccctca	136053	136069	3891	84
136	TBD-mm11	ASO-002299	CCttagttaccctca	136052	136068	3891	98
137	TBD-mm12	ASO-002311	CCttagttaccctca	136054	136070	3891	98
138	TBD-mm19	ASO-002300	CCCTaatttaccctca	136052	136068	3891	50
139	TBD-mm20	ASO-002312	CCttagttaccctca	136054	136070	3891	50
140	TBD-mm21	ASO-002324	CCttagttaccctca	136052	136069	3891	50
141	TBD-mm22	ASO-002336	CCttagttaccctca	136052	136069	3891	57
142	TBD-mm23	ASO-002348	CCttagttaccctca	136053	136070	3891	52
143	TBD-mm24	ASO-002360	CCttagttaccctca	136052	136070	3891	52
144	TBD-mm31	ASO-002349	TCCttagttaccctca	136053	136070	3891	97
145	TBD-mm32	ASO-002361	TCCttagttaccctca	136052	136070	3891	98
146	TBD-mm33	ASO-002373	CCCTaatttaccctca	136053	136069	3891	100
147	TBD-mm34	ASO-002385	TCCttagttaccctca	136052	136068	3891	92
148	TBD-mm35	ASO-002302	TCCttagttaccctca	136054	136070	3891	50
149	TBD-mm36	ASO-002314	CCCTaatttaccctca	136054	136070	3891	95
150	TBD-mm7	ASO-002346	CCttagttaccctca	136053	136070	3891	98
151	TBD-mm8	ASO-002358	CCttagttaccctca	136053	136069	3891	99
152	TBD-mm9	ASO-002370	CCttagttaccctca	136052	136070	3891	100
153	ASO-000540	ASO-000540	CCCTaatttaccctc	136053	136068	3892	99
154	ASO-000555	ASO-000555	CTTaatccctc	136053	136067	3892	98

【 図 6 - 8 】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前 mRNA 開始 NG_0073 98	前 mRNA A 修了 NG_0073 98	mRNA 開始 NM_016 835	タウ / チュービリン阻害%
155	ASO-000579	ASO-000579	TTAatttaccctc	136053	136066	3892	94
156	ASO-000540-1	ASO-002130	CCCTaatttaccctc	136053	136069	3892	97
157	ASO-000540-10	ASO-002143	CCCTaatttaccctc	136053	136069	3892	98
158	ASO-000540-11	ASO-002155	CCCTaatttaccctc	136053	136069	3892	96
159	ASO-000540-12	ASO-002167	CCCTaatttaccctc	136053	136069	3892	88
160	ASO-000540-13	ASO-002179	CCCTaatttaccctc	136053	136069	3892	95
161	ASO-000540-14	ASO-002191	CCttagttaccctca	136052	136068	3891	99
162	ASO-000540-15	ASO-002108	CCCTaatttaccctca	136052	136068	3891	98
163	ASO-000540-16	ASO-002120	CCCTaatttaccctca	136052	136068	3891	98
164	ASO-000540-17	ASO-002132	CCCTaatttaccctca	136052	136068	3891	98
165	ASO-000540-18	ASO-002144	CCCTaatttaccctca	136052	136068	3891	99
166	ASO-000540-19	ASO-002156	CCCTaatttaccctca	136052	136068	3891	99
167	ASO-000540-2	ASO-002142	CCCTaatttaccctc	136053	136069	3892	98
168	ASO-000540-20	ASO-002168	CCCTaatttaccctca	136052	136068	3891	99
169	ASO-000540-55	ASO-002201	TCCctaatccctc	136053	136070	3892	98
170	ASO-000540-57	ASO-002205	TCCctaatccctc	136053	136070	3892	98
171	ASO-000540-58	ASO-002209	TCCctaatccctc	136053	136070	3892	93
172	ASO-000540-59	ASO-002213	TCCctaatccctc	136053	136070	3892	84

【 図 6 - 9 】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前 mRNA 開始 NG_0073 98	前 mRNA A 修了 NG_0073 98	mRNA 開始 NM_016 835	タウ / チュービリン阻害%
173	ASO-000540-6	ASO-002190	CCCTaatttaccctc	136053	136069	3892	80
174	ASO-000540-60	ASO-002217	TCCctaatccctc	136053	136070	3892	3
175	ASO-000540-61	ASO-002221	TCCctaatccctc	136053	136070	3892	69
176	ASO-000540-62	ASO-002225	TCCctaatccctc	136053	136070	3892	36
177	ASO-000540-63	ASO-002198	TCCctaatccctc	136053	136070	3892	48
178	ASO-000540-64	ASO-002202	TCCctaatccctc	136053	136070	3892	61
179	ASO-000540-65	ASO-002206	TCCctaatccctc	136053	136070	3892	69
180	ASO-000540-66	ASO-002210	TCCctaatccctca	136052	136070	3891	99
181	ASO-000540-67	ASO-002214	TCCctaatccctca	136052	136070	3891	99
182	ASO-000540-68	ASO-002218	TCCctaatccctca	136052	136070	3891	99
183	ASO-000540-mm1	ASO-002297	CCttagttaccctc	136053	136068	3892	97
184	ASO-000540-mm2	ASO-002309	CCCTaatttaccctc	136053	136068	3892	87
185	ASO-000540-mm3	ASO-002321	CCttagttaccctc	136053	136068	3892	91
186	ASO-000540-mm4	ASO-002333	CCttagttaccctc	136053	136068	3892	89
187	ASO-000540-mm5	ASO-002345	CCttagttaccctc	136053	136068	3892	96
188	ASO-000540-mm6	ASO-002357	CCttagttaccctc	136053	136068	3892	13
189	TBD-mm1	ASO-002369	CCCTaatttaccctc	136052	136070	3892	95
190	TBD-mm2	ASO-002381	CCCTaatttaccctc	136053	136069	3892	98

【 図 6 - 10 】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前 mRNA 開始 NG_0073 98	前 mRNA A 修了 NG_0073 98	mRNA 開始 NM_016 835	タウ / チュービリン阻害%
191	TBD-mm25	ASO-002372	TCCttagttaccctc	136052	136070	3892	51
192	TBD-mm26	ASO-002384	TCCctaatccctc	136052	136068	3892	61
193	TBD-mm27	ASO-002301	TCCctaatccctc	136052	136068	3892	52
194	TBD-mm28	ASO-002313	TCCctaatccctc	136054	136070	3892	51
195	TBD-mm29	ASO-002325	TCCctaatccctc	136052	136069	3892	23
196	TBD-mm3	ASO-002298	CCCTaatttaccctc	136053	136069	3892	97
197	TBD-mm30	ASO-002337	CCCTaatttaccctc	136053	136070	3892	100
198	TBD-mm4	ASO-002310	CCttagttaccctc	136054	136070	3892	71
199	TBD-mm5	ASO-002322	CCCTaatttaccctc	136052	136069	3892	91
200	TBD-mm6	ASO-002334	CCCTaatttaccctc	136052	136069	3892	51
201	ASO-000662	ASO-000662	CCCTaatttaccctc	136054	136069	3893	96
202	ASO-000566	ASO-000566	CCCTaatttaccctc	136054	136068	3893	94
203	ASO-000540-30	ASO-002193	TCCctaatccctc	136054	136070	3893	89
204	ASO-000540-31	ASO-002110	TCCctaatccctc	136054	136070	3893	74
205	ASO-000540-32	ASO-002384	TCCctaatccctc	136054	136070	3893	84
206	ASO-000540-33	ASO-002301	TCCctaatccctc	136054	136070	3893	75
207	ASO-000540-34	ASO-002313	TCCctaatccctc	136054	136070	3893	60
208	ASO-000540-35	ASO-002325	TCCctaatccctc	136054	136070	3893	33
209	ASO-000540-36	ASO-002298	TCCctaatccctc	136054	136070	3893	66
210	ASO-000540-37	ASO-002337	CCCTaatttaccctca	136052	136069	3891	98

【図6-11】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前mRNA開始 NG_0073 98	前mRNA A修了 NG_0073 98	mRNA開始 NM_016 835	タウ/チュービン阻害%
211	ASO-000540-38	ASO-002310	CCCTtaattccaccTCA	136052	136069	3891	98
212	ASO-000540-39	ASO-002322	CCCTtaattccaccCTCA	136052	136069	3891	98
213	ASO-000540-4	ASO-002334	CCCTtaattcaCctTC	136053	136069	3892	96
214	ASO-000540-40	ASO-000662	CCCTtaattcaCctCA	136052	136069	3891	99
215	ASO-000540-41	ASO-000566	CCCTtaattcaCctCA	136052	136069	3891	96
216	TBD-mm13	ASO-002193	TcCCTtatttccaccCT	136053	136069	3893	95
217	TBD-mm14	ASO-002110	TcCCTtaattccaccC	136052	136069	3893	99
218	TBD-mm15	ASO-002347	TcCCTtaattccaccCT	136053	136070	3893	91
219	TBD-mm16	ASO-002359	TcCCTtatttccaccC	136053	136070	3893	97
220	TBD-mm17	ASO-002371	TcCCTtatttccaccC	136052	136070	3893	95
221	TBD-mm18	ASO-002383	TcCCTtatttccaccCT	136052	136068	3893	65
222	ASO-000628	ASO-000628	CCCTtaattcaCCC	136055	136068	3894	98
223	ASO-000642	ASO-000642	CCCTtaattcaCCC	136055	136069	3894	98
224	ASO-000274	ASO-000274	TCCTtaattcaCCC	136055	136070	3894	99
225	ASO-000339	ASO-000339	CCCTtaattcaCCC	136055	136068	3894	100
226	ASO-000536	ASO-000536	TTCCcttaattcaACC	136056	136071	3895	91
227	ASO-000603	ASO-000603	TCCTtaattcaACC	136056	136070	3895	87
228	ASO-000666	ASO-000666	TCCTtaattcaCACC	136057	136070	3896	63
229	ASO-000272	ASO-000272	AGAGtagaaggctGG	136099	136114	3938	100
230	ASO-000255	ASO-000255	TcGatgtagtgaCCT	136115	136130	3954	99
231	ASO-000336	ASO-000336	GGAGtagtgaACT	136116	136129	3955	98
232	ASO-000206	ASO-000206	GTGgtagtgaGAA	136118	136132	3957	99
233	ASO-000271	ASO-000271	AGTtggatgagTGA	136119	136133	3958	100
234	ASO-000340	ASO-000340	GTTgtagtgaTGA	136119	136132	3958	100

【図6-12】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前mRNA開始 NG_0073 98	前mRNA A修了 NG_0073 98	mRNA開始 NM_016 835	タウ/チュービン阻害%
235	ASO-000229	ASO-000229	CAGggaaccgaatCAG	136160	136175	3999	100
236	ASO-000273	ASO-000273	GCCTgcttcacaTCT	136193	136208	4032	95
237	ASO-000264	ASO-000264	ACAaggaacaacACC	136229	136244	4068	100
238	ASO-000341	ASO-000341	TGTCaacaagcCAG	136236	136249	4075	56
239	ASO-000198	ASO-000198	TGCcttgggtgcCTTG	136355	136370	4194	97
240	ASO-000210	ASO-000210	AGCGgaactgtgGCC	136371	136386	4210	92
241	ASO-000342	ASO-000342	GGacagcgggACT	136378	136391	4217	
242	ASO-000333	ASO-000333	GGGggtgggtgTCT	136427	136442	4266	99
243	ASO-000199	ASO-000199	CAGaacaacagcATG	136541	136556	4380	99
244	ASO-000280	ASO-000280	TCTatgtatgtTCA	136567	136582	4406	100
245	ASO-000211	ASO-000211	ATCtatgtatgtTTC	136568	136583	4407	99
246	ASO-000347	ASO-000347	CATctatgtatTGT	136570	136584	4409	42
247	ASO-000352	ASO-000352	ACATctatgtatTGT	136570	136585	4409	4
248	ASO-000232	ASO-000232	CAAcaggtgacagATG	136600	136615	4439	98
249	ASO-000257	ASO-000257	AGCataaacagacAAA	136629	136644	4468	99
250	ASO-000388	ASO-000388	ATAGctactgtgTGA	136650	136665	4489	99
251	ASO-000390	ASO-000390	TAGtctactgtgTGA	136650	136664	4489	97
252	ASO-000413	ASO-000413	AGTctactgtgTGA	136650	136663	4489	37
253	ASO-000405	ASO-000405	CATagctactgtGTC	136651	136666	4490	100
254	ASO-000430	ASO-000430	TAGtctactgtGTC	136651	136664	4490	100
255	ASO-000447	ASO-000447	TCAtagctactgtGTC	136652	136667	4491	100
256	ASO-000396	ASO-000396	TACatgctctTTT	136693	136706	4532	100
257	ASO-000395	ASO-000395	GATacatgctctTTT	136693	136708	4532	99
258	ASO-000394	ASO-000394	AAGatacatgctCTT	136695	136710	4534	100
259	ASO-000421	ASO-000421	TTCaagatacatgCTT	136698	136713	4537	100
260	ASO-000400	ASO-000400	ATTcaagatacatGTC	136700	136715	4539	99
261	ASO-000248	ASO-000248	GCAttcaagataCAT	136702	136717	4541	100
262	ASO-000451	ASO-000451	AAGctttcaagataCAT	136704	136719	4543	99
263	ASO-000707	ASO-000707	ACAagctttcaagGAT	136706	136721	4545	100

【図6-13】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前mRNA開始 NG_0073 98	前mRNA A修了 NG_0073 98	mRNA開始 NM_016 835	タウ/チュービン阻害%
264	ASO-000619	ASO-000619	TTCAagcatttcAAG	136708	136723	4547	88
265	ASO-000671	ASO-000671	AACctcttcaacGCA	136715	136730	4554	
266	ASO-000221	ASO-000221	GTTagaaccttTTA	136721	136736	4560	100
267	ASO-000298	ASO-000298	CCACacagggcacCTG	136776	136791	4615	98
268	ASO-000311	ASO-000311	GTCctgttggtccc	136842	136857	4681	97
269	ASO-000290	ASO-000290	TGAaggtctctTAG	136871	136886	4710	99
270	ASO-000437	ASO-000437	CTGcttccaggtCTT	136896	136911	4735	100
271	ASO-000446	ASO-000446	TCTgttctcagGCC	136898	136913	4737	98
272	ASO-000685	ASO-000685	AACTctgtctcAGG	136900	136915	4739	65
273	ASO-000410	ASO-000410	TCTgttctcAGG	136900	136913	4739	23
274	ASO-000604	ASO-000604	AACTctgtctcCAG	136901	136915	4740	94
275	ASO-000490	ASO-000490	TAActctgtctCAG	136901	136916	4740	89
276	ASO-000529	ASO-000529	AACTctgtctCTCA	136902	136915	4741	100
277	ASO-000532	ASO-000532	CTAactctgtctTCA	136902	136917	4741	99
278	ASO-000508	ASO-000508	TAActctgtctTCA	136902	136916	4741	95
279	ASO-000219	ASO-000219	CCCTaactctgtctTTC	136903	136918	4742	100
280	ASO-000656	ASO-000656	TAActctgtctTTC	136903	136916	4742	99
281	ASO-000522	ASO-000522	CTAactctgtctTTC	136903	136917	4742	98
282	ASO-000513	ASO-000513	CCCTaactctgtctCTT	136904	136918	4743	97
283	ASO-000640	ASO-000640	TCTaactctgtctCTT	136904	136919	4743	93
284	ASO-000661	ASO-000661	CTAactctgtctCTT	136904	136917	4743	85
285	ASO-000478	ASO-000478	GTCTaactctgtctGCT	136905	136920	4744	96
286	ASO-000500	ASO-000500	TCTaactctgtctGCT	136905	136919	4744	94
287	ASO-000601	ASO-000601	CCTaactctgtctGCT	136905	136918	4744	93
288	ASO-000643	ASO-000643	AGTctactctgtctTGC	136906	136921	4745	99
289	ASO-000600	ASO-000600	GTCTaactctgtctTGC	136906	136920	4745	98
290	ASO-000525	ASO-000525	TCTaactctgtctTGC	136906	136919	4745	90
291	ASO-000453	ASO-000453	TCActctactctgtCTG	136908	136923	4747	60
292	ASO-000553	ASO-000553	CTTcagcttaactCCT	136910	136925	4749	95

【図6-14】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前mRNA開始 NG_0073 98	前mRNA A修了 NG_0073 98	mRNA開始 NM_016 835	タウ/チュービン阻害%
293	ASO-000622	ASO-000622	GCTTcagcttaATC	136912	136926	4751	100
294	ASO-000325	ASO-000325	CTGacacagggagCCC	136956	136971	4795	99
295	ASO-000215	ASO-000215	GCCagaccagccaCAA	136987	137002	4826	97
296	ASO-000482	ASO-000482	CAGgattgttaAGC	137065	137078	4904	60
297	ASO-000337	ASO-000337	TGCaggaattgttaAGC	137065	137080	4904	88
298	ASO-000480	ASO-000480	ATGcaggaattgttaAAG	137066	137081	4905	57
299	ASO-000644	ASO-000644	GATgaggaattgtTAA	137067	137082	4906	97
300	ASO-000695	ASO-000695	TGCaggaattgtTAA	137067	137080	4906	41
301	ASO-000455	ASO-000455	TGATcaggaattgtTA	137068	137083	4907	94
302	ASO-000531	ASO-000531	GTGatcaggaattGTG	137069	137084	4908	100
303	ASO-000651	ASO-000651	TGTgagcaggaTTG	137070	137085	4909	96
304	ASO-000007	ASO-000007	TGTgagcaggaGTT	137071	137085	4910	92
305	ASO-000419	ASO-000419	GTGatcaggaGTT	137071	137084	4910	100
306	ASO-000730	ASO-000730	TGTgagcaggaGTT	137071	137085	4910	92
307	ASO-000728	ASO-000728	TGTgagcaggaGTT	137071	137085	4910	91
308	ASO-000729	ASO-000729	TGTgagcaggaGTT	137071	137085	4910	12
309	ASO-000727	ASO-000727	TGTgagcaggaGTT	137071	137085	4910	1
310	ASO-000715	ASO-000715	TGTgagcaggaTT	137071	137085	4910	2
311	ASO-000716	ASO-000716	GATgagcaggaTT	137071	137082	4910	97
312	ASO-000721	ASO-000721	TGTgagcaggaGTT	137071	137085	4910	99
313	ASO-000722	ASO-000722	TGTgagcaggaGTT	137071	137085	4910	99
314	ASO-000723	ASO-000723	TGTgagcaggaGTT	137071	137085	4910	
315	ASO-000724	ASO-000724	TGTgagcaggaGTT	137071	137085	4910	99
316	ASO-000725	ASO-000725	TGTgagcaggaGTT	137071	137085	4910	100
317	ASO-000726	ASO-000726	TGTgagcaggaGTT	137071	137085	4910	12
318	ASO-000731	ASO-000731	TGTgagcaggaGTT	137071	137085	4910	
319	ASO-000718	ASO-000718	TGTgagcaggaGT	137072	137083	4911	100
320	ASO-000445	ASO-000445	TGTgagcaggaGAT	137073	137086	4912	100
321	ASO-000436	ASO-000436	CTTgagcaggaGAG	137073	137087	4912	98

【図6-15】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前 mRNA 開始 NG_0073 98	前 mRNA A 修了 NG_0073 98	mRNA 開始 NM_016 835	タウ/ チュービリン阻害%
322	ASO-000717	ASO-000717	GTgatcgagAG	137073	137084	4912	99
323	ASO-000570	ASO-000570	TTcttggatgcaGGA	137074	137089	4913	91
324	ASO-000408	ASO-000408	TCttgtgatgcaGGA	137074	137088	4913	90
325	ASO-000401	ASO-000401	CTTgtgatgcaGGA	137074	137087	4913	88
326	ASO-000719	ASO-000719	TgtgatgcaGA	137074	137085	4913	100
327	ASO-000313	ASO-000313	CAgagggagctTTGG	137173	137188	5012	100
328	ASO-000331	ASO-000331	AActctgtgtgtGTC	137223	137238	5062	100
329	ASO-000251	ASO-000251	AGGcaattcatCCC	137239	137252	5078	97
330	ASO-000574	ASO-000574	TGTcaagctttGGG	137326	137341	5165	99
331	ASO-000218	ASO-000218	TCgtctcaagctTTG	137328	137343	5167	99
332	ASO-000634	ASO-000634	CTCgtctcaagctTTT	137329	137344	5168	99
333	ASO-000497	ASO-000497	GGTctcttgtaAGG	137333	137348	5172	99
334	ASO-000569	ASO-000569	GGTgtctgtgCA	137335	137348	5174	100
335	ASO-000565	ASO-000565	GCTgaggtctctGGT	137338	137353	5177	99
336	ASO-000296	ASO-000296	AGTttgtcaagTCA	137358	137373	5197	98
337	ASO-000663	ASO-000663	GGTgtctgtgCA	137359	137374	5198	100
338	ASO-000670	ASO-000670	AGTttgtcaagGTC	137359	137373	5198	100
339	ASO-000261	ASO-000261	GGAgttgtcaAGT	137360	137375	5199	100
340	ASO-000262	ASO-000262	GGAgttgtcaAGG	137361	137375	5200	99
341	ASO-000275	ASO-000275	TGgagttgtcaAGG	137361	137376	5200	7
342	ASO-000247	ASO-000247	ATGagttgtcaAGG	137362	137377	5201	98
343	ASO-000303	ASO-000303	GGTgtctgtgCA	137362	137376	5201	99
344	ASO-000299	ASO-000299	ATGagttgtgCA	137363	137377	5202	96
345	ASO-000270	ASO-000270	AGAtgagttgtgCA	137364	137379	5203	100
346	ASO-000297	ASO-000297	AGCagatgagttGT	137367	137382	5206	96
347	ASO-000259	ASO-000259	TTcttaagcagcAAT	137416	137431	5255	
348	ASO-000220	ASO-000220	TGAtcccaaccGAA	137462	137477	5301	98
349	ASO-000278	ASO-000278	GTTgctttaaTGT	137475	137489	5314	99
350	ASO-000334	ASO-000334	GCctgtgtcttACT	137505	137520	5344	61

【図6-17】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前 mRNA 開始 NG_0073 98	前 mRNA A 修了 NG_0073 98	mRNA 開始 NM_016 835	タウ/ チュービリン阻害%
380	ASO-000230	ASO-000230	ATTgataaagtAGT	138051	138065	5889	99
381	ASO-000188	ASO-000188	AActattgataaAGT	138055	138069	5893	4
382	ASO-000415	ASO-000415	GAActatgatAAA	138057	138070	5895	21
383	ASO-000448	ASO-000448	GGActattgataAAA	138058	138071	5896	100
384	ASO-000190	ASO-000190	AAgtgactatgAT	138060	138075	5898	
385	ASO-000191	ASO-000191	AAgtgactatTGA	138061	138074	5899	97
386	ASO-000348	ASO-000348	TCAattaaagTGA	138068	138082	5906	
387	ASO-000349	ASO-000349	GTcaattaaTGGA	138069	138083	5907	
388	ASO-000200	ASO-000200	GGAtacatgctcaCCA	138089	138104	5927	100
389	ASO-000630	ASO-000630	GCAacagatcagAGT	138096	138111	5934	100
390	ASO-000614	ASO-000614	CAAcagatcagAGT	138096	138110	5934	99
391	ASO-000563	ASO-000563	AAcagatcagAGT	138096	138109	5934	90
392	ASO-000527	ASO-000527	TAGcaaacagatCA	138098	138113	5936	99
393	ASO-000617	ASO-000617	AAGcaaacagatTAC	138099	138114	5937	99
394	ASO-000539	ASO-000539	AAtagcaaacagGATA	138100	138115	5938	99
395	ASO-000691	ASO-000691	CAAtagcaaacagGAT	138101	138116	5939	99
396	ASO-000589	ASO-000589	AAtagcaaacagGAT	138101	138115	5939	99
397	ASO-000509	ASO-000509	GCAatagcaaacGGA	138102	138117	5940	
398	ASO-000674	ASO-000674	CAAtagcaaacGGA	138102	138116	5940	
399	ASO-000488	ASO-000488	GCAatagcaaacAGG	138103	138117	5941	100
400	ASO-000507	ASO-000507	AGCaatagcaaacAGG	138103	138118	5941	99
401	ASO-000521	ASO-000521	AGCaatagcaaacAG	138104	138118	5942	99
402	ASO-000288	ASO-000288	AAGcaatagcaaacAG	138104	138119	5942	
403	ASO-000552	ASO-000552	AAGcaatagcaaacAAT	138105	138119	5943	98
404	ASO-000250	ASO-000250	CAAtgtgtgtaAAT	138223	138238	6061	
405	ASO-000294	ASO-000294	GCaaatgtgtgA	138224	138239	6062	
406	ASO-000318	ASO-000318	TAGcaaacaggtTGA	138226	138241	6064	
407	ASO-000308	ASO-000308	CCcaaggtctctAAC	138263	138278	6101	
408	ASO-000254	ASO-000254	AAAGcaaacagatGTC	138361	138376	6199	

【図6-16】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前 mRNA 開始 NG_0073 98	前 mRNA A 修了 NG_0073 98	mRNA 開始 NM_016 835	タウ/ チュービリン阻害%
351	ASO-000241	ASO-000241	TGGgagagatctGGG	137583	137598	5422	99
352	ASO-000289	ASO-000289	TTctagatctctCA	137643	137658	5482	99
353	ASO-000233	ASO-000233	CTcaaacaccCAA	137682	137697	5521	100
354	ASO-000201	ASO-000201	AGGcacaagaacTTC	137765	137780	5604	90
355	ASO-000645	ASO-000645	ATctaggtgtGCC	137851	137865	5689	94
356	ASO-000546	ASO-000546	GATcttaggtgtGCC	137851	137866	5689	92
357	ASO-000692	ASO-000692	TGAtcttaggtgtGCC	137852	137867	5690	99
358	ASO-000511	ASO-000511	GATcttaggtgtGCC	137852	137866	5690	76
359	ASO-000538	ASO-000538	TGAtcttaggtgtGCC	137853	137867	5691	99
360	ASO-000214	ASO-000214	ATGatcttaggtgtGCC	137853	137868	5691	99
361	ASO-000653	ASO-000653	GATcttaggtgtGCC	137853	137866	5691	98
362	ASO-000615	ASO-000615	CATgatttaggtgtGCC	137854	137869	5692	89
363	ASO-000524	ASO-000524	CCAGatcttaggtgtGCC	137855	137870	5693	98
364	ASO-000492	ASO-000492	CATgatttaggtgtGCC	137855	137869	5693	95
365	ASO-000468	ASO-000468	ACCatgatttaggtgtGCC	137856	137871	5694	99
366	ASO-000698	ASO-000698	CCAGatcttaggtgtGCC	137856	137870	5694	100
367	ASO-000593	ASO-000593	CATgatttaggtgtGCC	137856	137869	5694	55
368	ASO-000519	ASO-000519	AAACatgatttaggtgtGCC	137858	137873	5696	96
369	ASO-000582	ASO-000582	CTAACatgatttaggtgtGCC	137858	137875	5698	74
370	ASO-000635	ASO-000635	CCCAaacatgatttaggtgtGCC	137862	137877	5700	98
371	ASO-000471	ASO-000471	CACcctaacatgatttaggtgtGCC	137864	137879	5702	96
372	ASO-000701	ASO-000701	ATCaccctaacatgatttaggtgtGCC	137866	137881	5704	100
373	ASO-000533	ASO-000533	TGAtaacctaacatgatttaggtgtGCC	137868	137883	5706	96
374	ASO-000323	ASO-000323	GAGgagtttaggtgtGCC	137947	137962	5785	
375	ASO-000329	ASO-000329	TGCaggttaggtgtGCC	137973	137988	5811	
376	ASO-000194	ASO-000194	TATctagccccCCC	138003	138016	5841	100
377	ASO-000192	ASO-000192	CTActagccccCCC	138003	138017	5841	99
378	ASO-000343	ASO-000343	TATcctactcaCCC	138008	138021	5846	
379	ASO-000212	ASO-000212	TTGataaagtgtGTC	138050	138064	5888	

【図6-18】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前 mRNA 開始 NG_0073 98	前 mRNA A 修了 NG_0073 98	mRNA 開始 NM_016 835	タウ/ チュービリン阻害%
409	ASO-000545	ASO-000545	AAGagggcagcagGCC	138377	138392	6215	92
410	ASO-000476	ASO-000476	GAAaggggagcagAGG	138379	138394	6217	100
411	ASO-000620	ASO-000620	CTGaaagagggcagGCA	138381	138396	6219	63
412	ASO-000477	ASO-000477	CCCgaagagggcagCAG	138383	138398	6221	39
413	ASO-000562	ASO-000562	TGAtgatttaggtgtGCC	138401	138416	6239	100
414	ASO-000547	ASO-000547	ATGatttaggtgtGCC	138402	138417	6240	100
415	ASO-000696	ASO-000696	TGAtgatttaggtgtGCC	138402	138416	6240	99
416	ASO-000279	ASO-000279	GATgttaggtgtGCC	138402	138415	6240	
417	ASO-000543	ASO-000543	CATgatttaggtgtGCC	138403	138418	6241	100
418	ASO-000626	ASO-000626	TGAtgatttaggtgtGCC	138403	138416	6241	100
419	ASO-000650	ASO-000650	ATGatttaggtgtGCC	138403	138417	6241	100
420	ASO-000599	ASO-000599	CATgatttaggtgtGCC	138404	138418	6242	98
421	ASO-000542	ASO-000542	GCAgatttaggtgtGCC	138404	138419	6242	96
422	ASO-000463	ASO-000463	GGCatttaggtgtGCC	138405	138420	6243	79
423	ASO-000605	ASO-000605	GCAgatttaggtgtGCC	138405	138419	6243	61
424	ASO-000479	ASO-000479	CATgatttaggtgtGCC	138405	138418	6243	
425	ASO-000474	ASO-000474	GCAgatttaggtgtGCC	138406	138419	6244	99
426	ASO-000675	ASO-000675	GGCatttaggtgtGCC	138406	138420	6244	95
427	ASO-000537	ASO-000537	AGGcatttaggtgtGCC	138406	138421	6244	89
428	ASO-000287	ASO-000287	AGGagggcagatTGT	138410	138425	6248	
429	ASO-000292	ASO-000292	GGGagggcagatTGT	138410	138424	6248	
430	ASO-000216	ASO-000216	TTAgggagcagatATT	138412	138427	6250	96
431	ASO-000266	ASO-000266	TTAgggagcagatGAT	138413	138427	6251	
432	ASO-000256	ASO-000256	TCTtagggagcagTGA	138414	138429	6252	
433	ASO-000269	ASO-000269	GAGgggacagatGGT	138460	138475	6298	
434	ASO-000350	ASO-000350	CAGgttaggtgtGCC	138469	138483	6307	
435	ASO-000353	ASO-000353	CAGgttaggtgtGCC	138470	138483	6308	
436	ASO-000310	ASO-000310	ACAaagtaggtgtGCC	138532	138547	6370	
437	ASO-000309	ASO-000309	AACaagtaggtgtGCC	138533	138548	6371	

【 図 6 - 1 9 】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前 mRNA 開始 NG_0073 98	前 mRNA A 修了 NG_0073 98	mRNA 開始 NM_016 835	タウ/チュービリン阻害%
438	ASO-000263	ASO-000263	GAGagaatcagAAG	138631	138646	6469	
439	ASO-000197	ASO-000197	TCtaggcagtcCCA	138667	138682	6505	99
440	ASO-000239	ASO-000239	AGTctattaggAGG	138689	138702	6527	100
441	ASO-000267	ASO-000267	GCTcaatgcaAAC	138714	138729	6552	
442	ASO-000306	ASO-000306	TGcaatgctcagAAA	138737	138751	6575	
443	ASO-000345	ASO-000345	GCAagtccagAAA	138737	138750	6575	
444	ASO-000193	ASO-000193	AATcagggactGCA	138748	138763	6586	100
445	ASO-000284	ASO-000284	GATttcgtccctcCC	138788	138803	6626	
446	ASO-000209	ASO-000209	GCTaagcaagcTGA	138802	138816	6640	99
447	ASO-000207	ASO-000207	CTAagcaagcTGA	138802	138815	6640	97
448	ASO-000301	ASO-000301	TAGacattccacGAC	138822	138836	6660	
449	ASO-000234	ASO-000234	TATagacattcCAG	138824	138838	6662	100
450	ASO-000332	ASO-000332	AAAcacacaatcACT	138840	138855	6678	
451	SPC-15693-01	ASO-002268	CAGcaatcagcGT	138869	138884	6707	100
452	SPC-15692-01	ASO-002268	ACagcaatcagcGT	138870	138885	6708	100
453	SPC-15691-01	ASO-002260	TAcagcaatcagcGT	138871	138886	6709	99
454	SPC-15690-01	ASO-002252	TTAcagcaatcagcGT	138872	138887	6710	100
455	SPC-15689-01	ASO-002244	TTTAcagcaatcagcGT	138873	138888	6711	100
456	SPC-15688-01	ASO-002290	TTTAcagcaatcagcGT	138874	138889	6712	100
457	SPC-15687-01	ASO-002274	CTTAcagcaatcagcGT	138875	138890	6713	86
458	SPC-15686-01	ASO-002275	ACTTAcagcaatcagcGT	138876	138891	6714	100
459	SPC-15685-01	ASO-002267	CActttcagcaatcagcGT	138877	138892	6715	93
460	SPC-15684-01	ASO-002259	TCActttcagcaatcagcGT	138878	138893	6716	99
461	SPC-15683-01	ASO-002251	TTActttcagcaatcagcGT	138879	138894	6717	100
462	SPC-15682-01	ASO-002243	ATActttcagcaatcagcGT	138880	138895	6718	98
463	SPC-15681-01	ASO-002234	AATActttcagcaatcagcGT	138881	138896	6719	77

【 図 6 - 2 1 】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前 mRNA 開始 NG_0073 98	前 mRNA A 修了 NG_0073 98	mRNA 開始 NM_016 835	タウ/チュービリン阻害%
491	ASO-001933-mm1	ASO-002291	gTTcCaattcaactTTTAC	138884	138903	6722	50
492	ASO-001933-mm2	ASO-002303	AtTtCcaattcaactTTTAC	138884	138903	6722	50
493	ASO-001933-mm3	ASO-002315	TtTtCcaattcaactTTTAC	138884	138903	6722	50
494	ASO-001933-mm4	ASO-002327	gTtTcCaattcaactTTTAC	138884	138903	6722	83
495	ASO-001933-mm5	ASO-002339	AtTtCcaattcaactTtGc	138884	138903	6722	69
496	ASO-001933-mm6	ASO-002351	AtTtCcaattcaactTtTAC	138884	138903	6722	75
497	SPC-15678-01	ASO-002274	CCaaattcaactTTAC	138884	138899	6722	79
498	SPC-15857-01	ASO-002326	ATtTcCaattcaactTTAC	138884	138903	6722	99
499	SPC-15858-01	ASO-002338	ATTtCcaattcaactTTAC	138884	138903	6722	99
500	SPC-15860-01	ASO-002362	ATTtCcaattcaactTTAC	138884	138903	6722	99
501	SPC-15864-01	ASO-002236	ATTtCcaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	100
502	SPC-15868-01	ASO-002269	ATtTcCaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	100
503	SPC-15872-01	ASO-002237	ATtTcCaattcaactTTAC	138884	138903	6722	100
504	SPC-15873-01	ASO-002246	ATTtCcaattcaactTTAC	138884	138903	6722	99
505	SPC-15874-01	ASO-002254	ATTtCcaattcaactTTAC	138884	138903	6722	11
506	SPC-15878-01	ASO-002284	ATtTcCaattcaactTTAC	138884	138903	6722	100
507	SPC-15879-01	ASO-002229	ATTtCcaattcaactTTAC	138884	138903	6722	99
508	SPC-15880-01	ASO-002238	ATTtCcaattcaactTTAC	138884	138903	6722	100
509	SPC-15883-01	ASO-002263	ATtTcCaattcaactTTAC	138884	138903	6722	
510	SPC-15888-01	ASO-002239	ATTtCcaattcaactTTAC	138884	138903	6722	100

【 図 6 - 2 0 】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前 mRNA 開始 NG_0073 98	前 mRNA A 修了 NG_0073 98	mRNA 開始 NM_016 835	タウ/チュービリン阻害%
464	SPC-15680-01	ASO-002289	AAATcactttTACAG	138882	138897	6720	96
465	SPC-15679-01	ASO-002281	CAAatcactttTACA	138883	138898	6721	99
466	ASO-002090	ASO-002090	ATtTcCaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	99
467	ASO-002043	ASO-002043	ATtTcCaattcaactTTAC	138884	138903	6722	99
468	ASO-002076	ASO-002076	ATtTcCaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	99
469	ASO-002062	ASO-002062	ATtTcCaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	100
470	ASO-002082	ASO-002082	ATtTcCaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	100
471	ASO-000753	ASO-000753	ATtTcCaattcaactTTtA C	138884	138903	6722	96
472	ASO-001940	ASO-001940	ATtTcCaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	99
473	ASO-001933	ASO-001933	ATtTcCaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	99
474	ASO-001919	ASO-001919	ATtTcCaattcaactTTtA C	138884	138903	6722	99
475	ASO-002094	ASO-002094	ATtTcCaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	98
476	ASO-002034	ASO-002034	ATtTcCaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	100
477	ASO-002036	ASO-002036	ATtTcCaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	100
478	ASO-002084	ASO-002084	ATtTcCaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	99
479	ASO-002037	ASO-002037	ATtTcCaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	99
480	ASO-002058	ASO-002058	ATtTcCaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	99
481	ASO-002057	ASO-002057	ATtTcCaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	99
482	ASO-001926	ASO-001926	ATtTcCaattcaactTTtA C	138884	138903	6722	99
483	ASO-002092	ASO-002092	ATtTcCaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	99
484	ASO-002023	ASO-002023	ATtTcCaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	100
485	ASO-000758	ASO-000758	ATtTcCaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	97
486	ASO-002065	ASO-002065	ATtTcCaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	99
487	ASO-002038	ASO-002038	ATtTcCaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	99
488	ASO-002039	ASO-002039	ATtTcCaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	98
489	ASO-000763	ASO-000763	ATtTcCaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	14
490	ASO-000768	ASO-000768	ATtTcCaattcaactTTtAC	138884	138903	6722	0

【 図 6 - 2 2 】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前 mRNA 開始 NG_0073 98	前 mRNA A 修了 NG_0073 98	mRNA 開始 NM_016 835	タウ/チュービリン阻害%
511	ASO-000754	ASO-000754	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	100
512	ASO-002055	ASO-002055	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	99
513	ASO-002035	ASO-002035	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	100
514	ASO-002048	ASO-002048	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	100
515	ASO-002053	ASO-002053	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	100
516	ASO-002067	ASO-002067	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	99
517	ASO-001954	ASO-001954	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	99
518	ASO-001947	ASO-001947	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	99
519	ASO-002081	ASO-002081	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	100
520	ASO-001966	ASO-001966	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	99
521	ASO-002025	ASO-002025	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	100
522	ASO-002033	ASO-002033	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	99
523	ASO-001960	ASO-001960	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	99
524	ASO-002056	ASO-002056	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	100
525	ASO-002063	ASO-002063	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	99
526	ASO-002089	ASO-002089	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	100
527	ASO-002073	ASO-002073	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	99
528	ASO-002027	ASO-002027	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	99
529	ASO-002075	ASO-002075	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	99
530	ASO-002028	ASO-002028	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	99
531	ASO-002085	ASO-002085	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	99
532	ASO-002083	ASO-002083	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	99
533	ASO-000759	ASO-000759	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	93
534	ASO-000769	ASO-000769	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	0
535	ASO-000764	ASO-000764	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	0
536	ASO-001954-mm1	ASO-002340	TATtTcCaattcaactTTtT A	138885	138904	6723	98

【図6-23】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前 mRNA 開始 NG_0073 98	前 mRNA A 修了 NG_0073 98	mRNA 開始 NM_016 835	タウ/チュールン阻害%
537	ASO-001954-mm2	ASO-002352	TATTccgaattcaCTTT A	138885	138904	6723	99
538	ASO-001954-mm3	ASO-002364	ATTTccaattcaCTTT A	138885	138904	6723	97
539	ASO-001954-mm4	ASO-002376	ATTTccaattcaCTTT A	138885	138904	6723	38
540	ASO-001954-mm5	ASO-002293	ATTTccaattcaCTTT A	138885	138904	6723	96
541	ASO-001954-mm6	ASO-002305	TATTccaattcaCTTT A	138885	138904	6723	52
542	SPC-15677-01	ASO-002266	TCcaattcaCTTTA	138885	138900	6723	99
543	SPC-15859-01	ASO-002350	TATTccaattcaCTTTA	138885	138904	6723	99
544	SPC-15861-01	ASO-002374	TATTccaattcaCTTTA	138885	138904	6723	100
545	SPC-15862-01	ASO-002386	TATTccaattcaCTTTA	138885	138904	6723	99
546	SPC-15863-01	ASO-002227	TATTccaattcaCTTTA	138885	138904	6723	99
547	SPC-15865-01	ASO-002245	TATTccaattcaCTTTA	138885	138904	6723	100
548	SPC-15867-01	ASO-002261	TATTccaattcaCTTTA	138885	138904	6723	99
549	SPC-15869-01	ASO-002276	TATTccaattcaCTTTA	138885	138904	6723	100
550	SPC-15871-01	ASO-002228	TATTccaattcaCTTTA	138885	138904	6723	97
551	SPC-15882-01	ASO-002255	TATTccaattcaCTTTA	138885	138904	6723	98
552	SPC-15886-01	ASO-002285	TATTccaattcaCTTTA	138885	138904	6723	83
553	SPC-15887-01	ASO-002230	TATTccaattcaCTTTA	138885	138904	6723	100
554	SPC-15890-01	ASO-002256	TATTccaattcaCTTTA	138885	138904	6723	99
555	SPC-15893-01	ASO-002279	TATTccaattcaCTTTA	138885	138904	6723	100
556	ASO-002072	ASO-002072	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	99
557	ASO-000755	ASO-000755	TTATTccaattcaCTTT T	138886	138905	6724	99

【図6-24】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前 mRNA 開始 NG_0073 98	前 mRNA A 修了 NG_0073 98	mRNA 開始 NM_016 835	タウ/チュールン阻害%
558	ASO-002071	ASO-002071	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	100
559	ASO-000760	ASO-000760	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	96
560	ASO-001920	ASO-001920	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	99
561	ASO-002080	ASO-002080	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	100
562	ASO-001927	ASO-001927	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	99
563	ASO-001941	ASO-001941	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	99
564	ASO-002045	ASO-002045	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	100
565	ASO-001934	ASO-001934	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	98
566	ASO-002074	ASO-002074	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	100
567	ASO-002093	ASO-002093	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	100
568	ASO-002054	ASO-002054	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	100
569	ASO-002091	ASO-002091	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	99
570	ASO-002064	ASO-002064	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	99
571	ASO-002066	ASO-002066	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	99
572	ASO-002044	ASO-002044	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	99
573	ASO-002047	ASO-002047	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	99
574	ASO-002046	ASO-002046	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	96
575	ASO-000765	ASO-000765	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	39
576	ASO-000770	ASO-000770	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	0
577	ASO-001941-mm1	ASO-002317	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	50
578	ASO-001941-mm2	ASO-002329	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	99
579	ASO-001941-mm3	ASO-002341	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	99
580	ASO-001941-mm4	ASO-002353	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	76
581	ASO-001941-mm5	ASO-002365	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	87
582	ASO-001941-mm6	ASO-002377	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	79

【図6-25】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前 mRNA 開始 NG_0073 98	前 mRNA A 修了 NG_0073 98	mRNA 開始 NM_016 835	タウ/チュールン阻害%
583	SPC-15676-01	ASO-002258	TTccaattcaCTTT	138886	138901	6724	100
584	SPC-15866-01	ASO-002253	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	97
585	SPC-15870-01	ASO-002283	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	99
586	SPC-15875-01	ASO-002262	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	100
587	SPC-15876-01	ASO-002270	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	100
588	SPC-15877-01	ASO-002277	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	100
589	SPC-15881-01	ASO-002247	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	100
590	SPC-15884-01	ASO-002271	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	100
591	SPC-15885-01	ASO-002278	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	100
592	SPC-15889-01	ASO-002248	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	100
593	SPC-15891-01	ASO-002264	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	100
594	SPC-15892-01	ASO-002272	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	100
595	SPC-15894-01	ASO-002286	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	99
596	SPC-15895-01	ASO-002231	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	100
597	SPC-15896-01	ASO-002240	TTATTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	100
598	ASO-002020	ASO-002020	ACTTATTccaattcaCTTTaC	138884	138909	6722	99
599	ASO-000756	ASO-000756	TTTTATTccaattcaCTTT	138887	138906	6725	100
600	ASO-001967	ASO-001967	TTATTccaattcaCTTT	138887	138906	6725	99
601	ASO-001955	ASO-001955	TTATTccaattcaCTTT	138887	138906	6725	99
602	ASO-001948	ASO-001948	TTTTATTccaattcaCTTT	138887	138906	6725	100
603	ASO-002086	ASO-002086	ACTTATTccaattcaCTTTaC	138884	138908	6722	98
604	ASO-002029	ASO-002029	ACTTATTccaattcaCTTTaC	138884	138908	6722	98

【図6-26】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前 mRNA 開始 NG_0073 98	前 mRNA A 修了 NG_0073 98	mRNA 開始 NM_016 835	タウ/チュールン阻害%
605	ASO-001961	ASO-001961	TTATTccaattcaCTTT	138887	138906	6725	99
606	ASO-002095	ASO-002095	ACTTATTccaattcaCTTTaC	138884	138908	6722	94
607	ASO-002059	ASO-002059	ACTTATTccaattcaCTTTaC	138884	138908	6722	93
608	ASO-002077	ASO-002077	ACTTATTccaattcaCTTTaC	138884	138908	6722	91
609	ASO-002021	ASO-002021	ACTTATTccaattcaCTTTaC	138884	138908	6722	91
610	ASO-000761	ASO-000761	TTTTATTccaattcaCTTT	138887	138906	6725	93
611	ASO-002068	ASO-002068	ACTTATTccaattcaCTTTaC	138884	138908	6722	86
612	ASO-000766	ASO-000766	TTATTccaattcaCTTT	138887	138906	6725	3
613	ASO-000771	ASO-000771	TTATTccaattcaCTTT	138887	138906	6725	0
614	17-18-19mer-19	ASO-002416	TTATTccaattcaCTTT	138887	138904	6725	100
615	ASO-001967-mm2	ASO-002306	TTATTccaattcaCTTT	138887	138906	6725	50
616	ASO-001967-mm3	ASO-002318	TTATTccaattcaCTTT	138887	138906	6725	99
617	ASO-001967-mm4	ASO-002330	TTATTccaattcaCTTT	138887	138906	6725	83
618	ASO-001967-mm5	ASO-002342	TTATTccaattcaCTTT	138887	138906	6725	48
619	ASO-001967-mm6	ASO-002354	TTATTccaattcaCTTT	138887	138906	6725	87
620	SPC-15675-01	ASO-002250	TTTccaattcaCTTT	138887	138902	6725	99
621	ASO-002006	ASO-002006	CTTATTccaattcaCTTT	138888	138907	6726	99
622	ASO-000757	ASO-000757	CTTATTccaattcaCTTT	138888	138907	6726	100
623	ASO-002017	ASO-002017	CTTATTccaattcaCTTT	138888	138907	6726	99
624	ASO-001928	ASO-001928	CTTATTccaattcaCTTT	138888	138907	6726	100

【 図 6 - 2 7 】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前mRNA開始 NG_0073 98	前mRNA A修了 NG_0073 98	mRNA開始 NM_016 835	タウ/チューブリン組 害%
625	ASO-001968	ASO-001968	ACTTAttccaattCAC TT	138888	138908	6726	100
626	ASO-001921	ASO-001921	CTTAttccaattCACTT	138888	138907	6726	100
627	ASO-001989	ASO-001989	CTTAttccaattCACTT	138888	138907	6726	100
628	ASO-001942	ASO-001942	CTTAttccaattCAcCT	138888	138907	6726	99
629	ASO-000128	ASO-000128	TTTccaattCACTT	138888	138902	6726	100
630	ASO-001935	ASO-001935	CTTAttccaattCAcCT	138888	138907	6726	100
631	ASO-000013	ASO-000013	ATTccaattCACTT	138888	138903	6726	95
632	ASO-002002	ASO-002002	CTTAttccaattCACTT	138888	138907	6726	100
633	ASO-000762	ASO-000762	CTTAttccaattCACTT	138888	138907	6726	97
634	ASO-002010	ASO-002010	CTTAttccaattTcaCTT	138888	138907	6726	98
635	ASO-002005	ASO-002005	CTTAttccaattCACTT	138888	138907	6726	98
636	ASO-001998	ASO-001998	CTtAttccaattCACTT	138888	138907	6726	99
637	ASO-002001	ASO-002001	CTTAttccaattCACTT	138888	138907	6726	97
638	ASO-001994	ASO-001994	CTtAttccaattCACTT	138888	138907	6726	95
639	ASO-002013	ASO-002013	CTTAttccaattCACTT	138888	138907	6726	98
640	ASO-002009	ASO-002009	CTtAttccaattCACTT	138888	138907	6726	94
641	ASO-000767	ASO-000767	CTtAttccaattCAcCT	138888	138907	6726	32
642	ASO-000772	ASO-000772	CTtAttccaattCAcCT	138888	138907	6726	0
643	BMT-214296	ASO-214296	CTTAttccaattCACT T	138888	138907	6726	
644	ASO-000013-mm1	ASO-002366	ATTccaattCACTT	138888	138903	6726	97
645	ASO-000013-mm2	ASO-002378	ATTccaattCACTT	138888	138903	6726	55
646	ASO-000013-mm3	ASO-002295	ATTccaattCACTT	138888	138903	6726	60
647	ASO-000013-mm4	ASO-002307	ATTccaattCACTT	138888	138903	6726	52
648	ASO-000013-mm5	ASO-002319	ATTccaattCACTT	138888	138903	6726	98

【 図 6 - 2 8 】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前mRNA開始 NG_0073 98	前mRNA A修了 NG_0073 98	mRNA開始 NM_016 835	タウ/チューブリン組 害%
649	ASO-000013-mm6	ASO-002331	ATTccaattCACTT	138888	138903	6726	46
650	ASO-000898	ASO-000898	ATTccaattCACTT	138888	138903	6726	
651	ASO-001942-mm1	ASO-002363	CTTAttccaattCAcCTT	138888	138907	6726	98
652	ASO-001942-mm2	ASO-002375	CTTAttccaattCAcCTT	138888	138907	6726	99
653	ASO-001942-mm3	ASO-002292	CTTAttccaattCAcCTT	138888	138907	6726	50
654	ASO-001942-mm4	ASO-002304	CTTAttccaattCAcCTT	138888	138907	6726	50
655	ASO-001942-mm5	ASO-002316	CTTAttccaattCAcCTT	138888	138907	6726	52
656	ASO-001942-mm6	ASO-002328	CTTAttccaattCAcCTT	138888	138907	6726	96
657	SPC-15674-01	ASO-002242	ATTccaattCACTT	138888	138903	6726	100
658	ASO-002004	ASO-002366	CTTAttccaattCAcCT	138889	138907	6727	98
659	ASO-002012	ASO-002378	CTTAttccaattCAcCT	138889	138907	6727	100
660	ASO-001962	ASO-002295	ACTTAttccaattCAC T	138889	138908	6727	100
661	ASO-001956	ASO-002307	ACTTAttccaattCAC T	138889	138908	6727	99
662	ASO-001949	ASO-002319	ACTTAttccaattCAC T	138889	138908	6727	100
663	ASO-001987	ASO-002331	CTTAttccaattCAcCT	138889	138907	6727	99
664	ASO-001991	ASO-000898	CTTAttccaattCAcCT	138889	138907	6727	100
665	ASO-001995	ASO-002363	CTTAttccaattCAcCT	138889	138907	6727	99
666	ASO-001992	ASO-002375	CTTAttccaattCAcCT	138889	138907	6727	100
667	ASO-002000	ASO-002292	CTTAttccaattCAcCT	138889	138907	6727	100
668	ASO-001996	ASO-001996	CTTAttccaattCAcCT	138889	138907	6727	99

【 図 6 - 2 9 】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前mRNA開始 NG_0073 98	前mRNA A修了 NG_0073 98	mRNA開始 NM_016 835	タウ/チューブリン組 害%
669	ASO-002008	ASO-002008	CTTAttccaattCAcCT	138889	138907	6727	99
670	ASO-002015	ASO-002015	CTTAttccaattCAcCT	138889	138907	6727	98
671	ASO-002016	ASO-002016	CTTAttccaattCAcCT	138889	138907	6727	98
672	ASO-001986	ASO-001986	CTTAttccaattCAcCT	138889	138907	6727	95
673	ASO-001995-mm1	ASO-002343	CTTAttccaattCAcCT	138889	138907	6727	97
674	ASO-001995-mm2	ASO-002355	CTTAttccaattCAcCT	138889	138907	6727	98
675	ASO-001995-mm3	ASO-002367	CTTAttccaattCAcCT	138889	138907	6727	100
676	ASO-001995-mm4	ASO-002379	CTTAttccaattCAcCT	138889	138907	6727	86
677	ASO-001995-mm5	ASO-002296	CTTAttccaattCAcCT	138889	138907	6727	52
678	ASO-001995-mm6	ASO-002308	CTTAttccaattCAcCT	138889	138907	6727	51
679	SPC-15673-01	ASO-002233	TAttccaattCACT	138889	138904	6727	99
680	ASO-002003	ASO-002003	CTTAttccaattCAcCT	138890	138907	6728	99
681	ASO-002007	ASO-002007	CTTAttccaattCAcCT	138890	138907	6728	99
682	ASO-002011	ASO-002011	CTTAttccaattCAcCT	138890	138907	6728	100
683	ASO-001988	ASO-001988	CTTAttccaattCAcCT	138890	138907	6728	99
684	ASO-001999	ASO-001999	CTTAttccaattCAcCT	138890	138907	6728	100
685	ASO-001993	ASO-001993	CTTAttccaattCAcCT	138890	138907	6728	99
686	ASO-001997	ASO-001997	CTTAttccaattCAcCT	138890	138907	6728	99
687	ASO-001997-mm1	ASO-002320	CTTAttccaattCAcCT	138890	138907	6728	83
688	ASO-001997-mm2	ASO-002332	CTTAttccaattCAcCT	138890	138907	6728	85
689	ASO-001997-mm3	ASO-002344	CTTAttccaattCAcCT	138890	138907	6728	83
690	ASO-001997-mm4	ASO-002356	CTTAttccaattCAcCT	138890	138907	6728	33

【 図 6 - 3 0 】

Figure 6 続き

配列番号	オリゴマー名	ASO番号	ASO配列	前mRNA開始 NG_0073 98	前mRNA A修了 NG_0073 98	mRNA開始 NM_016 835	タウ/チューブリン組 害%
691	ASO-001997-mm5	ASO-002368	CTTAttccaattCAcCT	138890	138907	6728	6
692	ASO-001997-mm6	ASO-002380	CTTAttccaattCAcCT	138890	138907	6728	50
693	SPC-15672-01	ASO-002288	TTAttccaattCAcCT	138890	138905	6728	93
694	SPC-15671-01	ASO-002280	TTAttccaattCAcCT	138891	138906	6729	100
695	SPC-15670-01	ASO-002273	CTTAttccaattCAcCT	138892	138907	6730	99
696	SPC-15669-01	ASO-002265	ACTTAttccaattCAcCT	138893	138908	6731	84
697	ASO-000139	ASO-000139	AACTtattccaatt	138894	138909	6732	23
698	SPC-15668-01	ASO-002257	AACTtattccaatt	138894	138909	6732	93
699	SPC-15667-01	ASO-002249	TAACTtattccaatt	138895	138910	6733	97
700	SPC-15666-01	ASO-002241	ATAACTtattccaatt	138896	138911	6734	97
701	ASO-000118	ASO-000118	AACTtattccaatt	138897	138912	6735	92
702	SPC-15665-01	ASO-002232	AACTtattccaatt	138897	138912	6735	99
703	ASO-000101	ASO-000101	TAACTtattccaatt	138898	138913	6736	60
704	SPC-15664-01	ASO-002287	TAACTtattccaatt	138898	138913	6736	76
705	ASO-000148	ASO-000148	GTAActtattccaatt	138899	138914	6737	41
706	ASO-000184	ASO-000184	TAACTtattccaatt	138899	138913	6737	7
707	ASO-000112	ASO-000112	GTAActtattccaatt	138900	138914	6738	1
708	ASO-000170	ASO-000170	AGTAActtattccaatt	138900	138915	6738	1
709	ASO-000154	ASO-000154	GAGTAActtattccaatt	138901	138916	6739	0
710	ASO-000125	ASO-000125	AGTAActtattccaatt	138901	138915	6739	1
711	ASO-000167	ASO-000167	GAGTAActtattccaatt	138902	138916	6740	5
712	ASO-000134	ASO-000134	AGTAActtattccaatt	138902	138917	6740	12
713	ASO-000175	ASO-000175	CAGTAActtattccaatt	138903	138918	6741	43
714	ASO-000178	ASO-000178	AGTAActtattccaatt	138903	138917	6741	2
715	ASO-000138	ASO-000138	CAGTAActtattccaatt	138904	138918	6742	43

【 図 6 - 3 1 】

Figure 6 続き

配列 番号	オリゴマー 名	ASO番号	ASO配列	前 mRNA 開始 NG_0073 98	前 mRNA A 終了 NG_0073 98	mRNA 開始 NM_016 835	タウ/ チュービ リン組 害%
716	ASO-000171	ASO-000171	TCAgagtaataaCTT	138904	138919	6742	39
717	ASO-000236	ASO-000236	ATCagagtaataaCTT	138905	138920	6743	65
718	ASO-000127	ASO-000127	TCAgagtaataaCTT	138905	138919	6743	29
719	ASO-000177	ASO-000177	CAGagtaataaCTT	138905	138918	6743	28
720	ASO-000238	ASO-000238	AATcagagtaataACT	138906	138921	6744	21
721	ASO-000222	ASO-000222	TATcagagtaataAAC	138907	138922	6745	15
722	ASO-000307	ASO-000307	AATcagagtaataAAC	138907	138921	6745	3
723	ASO-000204	ASO-000204	TTAatcagagtaataTAA	138908	138923	6746	1
724	ASO-000330	ASO-000330	TATcagagtaataTAA	138908	138922	6746	2
725	ASO-000326	ASO-000326	TTTaatcagagtaataATA	138909	138924	6747	9
726	ASO-000249	ASO-000249	TTTaatcagagtaataAAT	138910	138924	6748	0
727	ASO-000202	ASO-000202	TTATtccaattcaCTTT	138886	138905	6724	99
728	ASO-000206	ASO-000206	TTatTccaattcaCTTT	138886	138905	6724	100
729	ASO-000204	ASO-000204	TTAttccaattcaCTTT	138886	138905	6724	99
730	ASO-0002049	ASO-0002049	ACTTattccaattcaCTTT TtAC	138884	138908	6722	99
731	ASO-0002019	ASO-0002019	ACTTattccaattcaCTTT TtAC	138884	138908	6722	98

【 配列表 】

2018511302000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2016/016652

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/50 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Z. CAO ET AL: "Tetramethylenedisulfotetramine Alters Ca ²⁺ Dynamics in Cultured Hippocampal Neurons: Mitigation by NMDA Receptor Blockade and GABAA Receptor-Positive Modulation", TOXICOLOGICAL SCIENCES, vol. 130, no. 2, 13 August 2012 (2012-08-13), pages 362-372, XP055267009, ISSN: 1096-6080, DOI: 10.1093/toxsci/kfs244 abstract; figures 1,2	1-5,7
Y	----- -/--	1,6
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
21 April 2016		11/07/2016
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Gundlach, Björn

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2016/016652

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Th Murphy ET AL: "Spontaneous synchronous synaptic calcium transients in cultured cortical neurons", Journal of Neuroscience, 1 December 1992 (1992-12-01), page 4834, XP055267084, UNITED STATES Retrieved from the Internet: URL:http://www.jneurosci.org/content/12/12/4834.full.pdf [retrieved on 2016-04-20] cited in the application figure 3	1,2
X	----- W. BOEHMERLE ET AL: "Paclitaxel induces calcium oscillations via an inositol 1,4,5-trisphosphate receptor and neuronal calcium sensor 1-dependent mechanism", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, vol. 103, no. 48, 28 November 2006 (2006-11-28), pages 18356-18361, XP055267208, US ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/pnas.0607240103	1-4
Y	figure 1	1,8
Y	----- HE S-J ET AL: "Caffeine-dependent stimulus-triggered oscillations in the CA3 region of hippocampal slices from rats chronically exposed to lead", EXPERIMENTAL NEUROLOGY, ACADEMIC PRESS, NEW YORK, NY, US, vol. 190, no. 2, 1 December 2004 (2004-12-01), pages 525-534, XP004626745, ISSN: 0014-4886, DOI: 10.1016/J.EXPNEUROL.2004.08.016 abstract	1,6
Y	----- WO 00/40614 A2 (BETH ISRAEL HOSPITAL [US]; SCHARENBERG ANDREW M [US]) 13 July 2000 (2000-07-13) abstract page 17	1,8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2016/016652**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

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

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

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

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

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

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1-8

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/ US2016/ 016652

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1-8

A method of testing or determining in vivo acute neurotoxicity of a molecule comprising measuring calcium oscillations in vitro in neuronal cells which are in contact with the molecule.

2. claims: 9-18

A method of determining in vivo acute neurotoxicity of a molecule comprising a polynucleotide, the method comprising calculating a sequence score, wherein the sequence score is calculated by formula (I): (number of C nucleotides or analogs thereof in the polynucleotide - number of G nucleotides or analogs thereof in the polynucleotide) / total nucleotide length (number) of the polynucleotide (I).

3. claims: 19, 20

A molecule selected to have a certain neurotoxicity or having tolerable in vivo acute neurotoxicity.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2016/016652

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0040614	A2	13-07-2000	
		AT 407949 T	15-09-2008
		AU 776672 B2	16-09-2004
		AU 2055600 A	24-07-2000
		CA 2360396 A1	13-07-2000
		EP 1141017 A2	10-10-2001
		EP 2006300 A2	24-12-2008
		HK 1041009 A1	08-05-2009
		JP 2002536966 A	05-11-2002
		WO 0040614 A2	13-07-2000

フロントページの続き

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
G 0 1 N 33/50 (2006.01)	G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/15 (2006.01)	G 0 1 N 33/15	Z

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(74) 代理人 100100158

弁理士 鯨島 睦

(74) 代理人 100122301

弁理士 富田 憲史

(72) 発明者 リチャード・イー・オルソン

アメリカ合衆国 0 6 4 9 2 コネチカット州ウォリングフォード、リサーチ・パークウェイ 5 番

(72) 発明者 アンジェラ・エム・カケース

アメリカ合衆国 0 6 4 4 1 コネチカット州ヒガナム、セブノーモ・レイン 3 1 番

(72) 発明者 ピーター・ヘーイドーン

デンマーク、デーコー 2 9 7 0 ヘアスホルム、フレムティズヴァイ 3 番

(72) 発明者 アンヤ・メルハルト・ヘウ

デンマーク 3 4 0 0 ヒレレス、クロクスヴァイ 1 6 番

(72) 発明者 ニルス・フィスケル・ニルセン

デンマーク、デーコー 2 8 0 0 コンゲンス・リュンビュー、ステンゴーズヴェンゲ 1 3 4 番

(72) 発明者 ドン・リィ

アメリカ合衆国 0 6 4 9 2 コネチカット州ウォリングフォード、リサーチ・パークウェイ 5 番

(72) 発明者 ジェフリー・エム・ブラウン

アメリカ合衆国 0 2 0 5 3 マサチューセッツ州メッドウェイ、リッジ・ストリート 3 番

(72) 発明者 スティーブン・イー・マーサー

アメリカ合衆国 0 6 4 9 2 コネチカット州ウォリングフォード、リサーチ・パークウェイ 5 番

(72) 発明者 マリアンネ・レアベック・イエンセン

デンマーク、デーコー 4 6 0 0 ケーエ、トルスヴァイ 7 番

F ターム (参考) 2G045 AA24 AA25 AA29 AA40 BA13 BB20 CA18 CA19 CB17 DA13

DA14 DA20 DA36 DB07 FA11 FB03 FB12 GC15 JA01

4B063 QA01 QA05 QQ42 QQ52 QQ91 QR50 QR66 QR77 QX02

4C084 AA13 NA06 ZA151 ZC411

4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA06 ZA15 ZC41