

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】平成31年3月22日 (2019.3.22)

【公表番号】特表2018-506304(P2018-506304A)

【公表日】平成30年3月8日 (2018.3.8)

【年通号数】公開・登録公報2018-009

【出願番号】特願2017-560478(P2017-560478)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/113 (2010.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 7/01 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 35/76 (2015.01)

A 6 1 K 35/761 (2015.01)

A 6 1 K 35/763 (2015.01)

A 6 1 P 25/14 (2006.01)

A 6 1 K 35/766 (2015.01)

A 6 1 K 31/713 (2006.01)

A 6 1 P 25/00 (2006.01)

A 6 1 P 25/08 (2006.01)

A 6 1 P 25/16 (2006.01)

A 6 1 P 25/28 (2006.01)

A 6 1 P 9/10 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/7105 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A G

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 7/01

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 35/76

A 6 1 K 35/761

A 6 1 K 35/763

A 6 1 P 25/14

A 6 1 K 35/766

A 6 1 K 31/713

A 6 1 P 25/00

A 6 1 P 25/08

A 6 1 P 25/16

A 6 1 P 25/28
 A 6 1 P 9/10
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 43/00 1 0 5
 A 6 1 K 31/7105

【手続補正書】

【提出日】平成31年2月5日(2019.2.5)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

第 1 の鎖および第 2 の鎖を含む RNA i であって、

a) 該第 1 の鎖および該第 2 の鎖は、二重鎖を形成し；

b) 該第 1 の鎖は、少なくとも 19 塩基のガイド領域を含み、該ガイド領域は、ガイド鎖の塩基 1 ~ N を含むシード領域を含み、ここで、N = 7 または N = 8 であり；および

c) 該第 2 の鎖は、少なくとも 19 塩基の非ガイド領域を含み、ここで、

(i) 該非ガイド領域は、二重鎖中のガイド領域の塩基 1 ~ (N + 2) のいずれか 1 つまたはそれ以上の反対側に、バルジ配列を含み、場合により、該バルジは、ガイド領域の塩基 1 または塩基 N + 2 の反対側にある；

(i i) 該非ガイド領域は、二重鎖中のガイド領域の塩基 1 ~ (N + 1) のいずれか 1 つまたはそれ以上の反対側に、バルジ配列を含み、場合により、該バルジは、ガイド領域の塩基 1 または塩基 N + 1 の反対側にある；または

(i i i) 該非ガイド領域は、二重鎖中のガイド領域の塩基 1 ~ N のいずれか 1 つまたはそれ以上の反対側に、バルジ配列を含み、場合により、該バルジは、ガイド領域の塩基 1 または塩基 N の反対側にある；

前記 RNA i。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の RNA i であって、ここで：

(a) バルジは、ガイド領域の塩基 1 の反対側にある；

(b) バルジは、ガイド領域における相補的な塩基が欠失した、二重鎖中の非ガイド鎖の 1 つまたはそれ以上の塩基によって形成され、該バルジに、ガイド鎖と対合する塩基が隣接する；

(c) バルジは、1 ~ 10 ヌクレオチドを含み、場合により、該バルジは、1 ~ 3 ヌクレオチドを含む；および / または

(d) RNA i は、第 2 のバルジを含み、該第 2 のバルジは、シード領域の 3' に配置されたガイド領域の第 1 の鎖に配置されている；

前記 RNA i。

【請求項 3】

RNA i であって、以下の：

(a) 配列 5' - U A G A C A A U G A U U C A C A C G G U - 3' (配列番号 1) に対して約 90% の同一性を有する核酸配列を含むガイド領域を含む第 1 の鎖、および、配列 5' - A C C G U G U G U C A U U G U C U A A - 3' (配列番号 2) に対して約 90% の同一性を有する核酸配列を含む非ガイド領域を含む第 2 の鎖を含む RNA i であって、該第 1 の鎖および該第 2 の鎖は、二重鎖を形成し、該第 2 の鎖の残基 18 または残基 19 における A 残基は、該非ガイド領域においてバルジを形成し、ここで場合により：

(i) 該ガイド領域は、配列 5' - U A G A C A A U G A U U C A C A C G G U - 3

’ (配列番号 1) を含む；

(i i) 該非ガイド領域は、配列 5’ - A C C G U G U G U C A U U G U C U A A - 3’ (配列番号 2) を含む；および / または

(i i i) ガイド領域の残基 11 および 12 における U 残基は、ガイド領域中でバルジを形成する；

(b) 配列 5’ - U C G A C A A U G A U U C A C A C G G U - 3’ (配列番号 15) に対して約 90% の同一性を有する核酸配列を含むガイド領域を含む第 1 の鎖、および、配列 5’ - A C C G U G U G U C A U U G U C G A A - 3’ (配列番号 16) に対して約 90% の同一性を有する核酸配列を含む非ガイド領域を含む第 2 の鎖を含む RNA i であって、該第 1 の鎖および該第 2 の鎖は、二重鎖を形成し、該第 2 の鎖の残基 18 または残基 19 における A 残基は、該非ガイド領域においてバルジを形成し、ここで場合により：

(i) 該ガイド領域は、配列 5’ - U C G A C A A U G A U U C A C A C G G U - 3’ (配列番号 15) を含む；

(i i) 該非ガイド領域は、配列 5’ - A C C G U G U G U C A U U G U C G A A - 3’ (配列番号 16) を含む；および / または

(i i i) ガイド領域の残基 11 および 12 における U 残基は、ガイド領域中でバルジを形成する；または

(c) 配列 5’ - U A G A C G A U G A U U C A C A C G G U - 3’ (配列番号 17) に対して約 90% の同一性を有する核酸配列を含むガイド領域を含む第 1 の鎖、および配列 5’ - A C C G U G U G U C A U C G U C U A A - 3’ (配列番号 18) に対して約 90% の同一性を有する核酸配列を含む非ガイド領域を含む第 2 の鎖を含む RNA i であって、該第 1 の鎖および該第 2 の鎖は、二重鎖を形成し、該第 2 の鎖の残基 18 または残基 19 における A 残基は、該非ガイド領域においてバルジを形成し、ここで場合により：

(i) 該ガイド領域は、配列 5’ - U A G A C G A U G A U U C A C A C G G U - 3’ (配列番号 17) を含む；

(i i) 該非ガイド領域は、配列 5’ - A C C G U G U G U C A U C G U C U A A - 3’ (配列番号 18) を含む；および / または

(i i i) ガイド領域の残基 11 および 12 における U 残基は、ガイド領域中でバルジを形成する；

を含む、前記 RNA i。

【請求項 4】

請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の RNA i であって、ここで：

(a) 二重鎖は、19 ~ 25 または 19 ~ 23 塩基対の長さである；

(b) 第 1 および / または第 2 の鎖は、3’ オーバーハング領域、5’ オーバーハング領域、または 3’ および 5’ オーバーハング領域の両方をさらに含む；および / または

(c) 第 1 の鎖および第 2 の鎖は、ループ構造を形成することが可能な RNA リンカーによって連結されており、ここで場合により：

(i) 該 RNA リンカーは、4 ~ 50 ヌクレオチド、4 ~ 20 ヌクレオチド、または 13 ヌクレオチドを含む；

(i i) 該ループ構造は、4 ~ 20 ヌクレオチドを含む；および / または

(i i i) 該 RNA i は、5’ から 3’ へ、第 2 の鎖、RNA リンカー、および第 1 の鎖を含む；または、該 RNA i は、5’ から 3’ へ、第 1 の鎖、RNA リンカー、および第 2 の鎖を含む；

前記 RNA i。

【請求項 5】

請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の RNA i であって、ここで：

(a) 配列は、オフターゲットの遺伝子サイレンシングを低減するように改善されている；

(b) 配列は、1 つまたはそれ以上の CpG モチーフを含む；および / または

(c) 配列は、シード領域中に 1 つまたはそれ以上の CpG モチーフを含む；

前記 RNAi。

【請求項 6】

請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載の RNAi であって、ここで：

該 RNAi は、配列番号 3 のヌクレオチド配列と約 90% 同一なヌクレオチド配列を含み、場合により、該 RNAi は、配列番号 3 のヌクレオチド配列を含む、前記 RNAi。

【請求項 7】

請求項 1～6 のいずれか 1 項に記載の RNAi であって、ここで：

該 RNAi は、低分子阻害性 RNA (siRNA)、マイクロ RNA (miRNA)、または小ヘアピン RNA (shRNA) である、前記 RNAi。

【請求項 8】

請求項 1～7 のいずれか 1 項に記載の RNAi であって、ここで：

該 RNAi は、障害に関連するポリペプチドをコードする RNA を標的化し、ここで場合により：

(a) 該障害は、CNS 障害である；

(b) 該障害は、リソソーム蓄積症 (LSD)、ハンチントン病、てんかん、パーキンソン病、アルツハイマー病、卒中、大脳皮質基底核変性症 (CBD)、大脳皮質基底核神経節変性症 (CBGD)、前頭側頭認知症 (FTD)、多系統萎縮症 (MSA)、進行性核上麻痺 (PSP)、または脳のがんである；および / または

(c) 該障害は、ハンチントン病である；

前記 RNAi。

【請求項 9】

請求項 8 に記載の RNAi であって、ここで：

ポリペプチドは、ハンチンチンであり、ここで場合により：

(a) 該ハンチンチンは、ハンチントン病に関連する突然変異を含む；および / または

(b) ガイド領域は、配列 5' - UAGACAAUGAUUCACACGGU - 3' (配列番号 1) を含み、非ガイド領域は、配列 5' - ACCGUGUGUCAUUGUCUAA - 3' (配列番号 2) を含む；または

(c) ガイド領域は、配列 5' - UCGACAAUGAUUCACACGGU - 3' (配列番号 15) を含み、非ガイド領域は、配列 5' - ACCGUGUGUCAUUGUCGAA - 3' (配列番号 16) を含む；または

(d) ガイド領域は、配列 5' - UAGACGAUGAUUCACACGGU - 3' (配列番号 17) を含み、非ガイド領域は、配列 5' - ACCGUGUGUCAUCGUUAA - 3' (配列番号 18) を含む；

前記 RNAi。

【請求項 10】

RNAi の毒性を低減する方法であって、該 RNAi の非ガイド領域にバルジを導入して、請求項 1～9 のいずれか 1 項に記載の RNAi を生成することを含む、前記方法。

【請求項 11】

請求項 1～9 のいずれか 1 項に記載の RNAi をコードする核酸を含む発現コンストラクトであって、場合により、該 RNAi をコードする核酸は、miRNA 足場を含み、場合により、該 RNAi をコードする核酸は、miR-155 足場を含む、前記発現コンストラクト。

【請求項 12】

請求項 11 に記載の発現コンストラクトであって、RNAi をコードする核酸は、プロモーターに機能するように連結されており、ここで場合により：

(a) 該プロモーターは、哺乳動物の脳で RNAi を発現させることが可能であり；および / または

(b) 該プロモーターは、サイトメガロウイルス (CMV) 前初期プロモーター、RSV LTR、MoMLV LTR、ホスホグリセリン酸キナーゼ - 1 (PGK) プロモーター、シミアンウイルス 40 (SV40) プロモーター、CK6 プロモーター、トランス

チレチンプロモーター (TTR)、TKプロモーター、テトラサイクリン応答プロモーター (TRE)、HBVプロモーター、hAATプロモーター、LSPプロモーター、キメラ肝臓特異的プロモーター (LSP)、E2Fプロモーター、テロメラーゼ (hTERT) プロモーター；サイトメガロウイルスエンハンサー/ニワトリベータ-アクチン/ウサギ-グロビンプロモーター (CAG) プロモーター、延長因子1-アルファプロモーター (EF1-アルファ) プロモーター、ヒト-グルクロニダーゼプロモーター、ニワトリ-アクチン (CBA) プロモーター、レトロウイルス性のラウス肉腫ウイルス (RSV) LTRプロモーター、ジヒドロ葉酸レダクターゼプロモーター、および13-アクチンプロモーターから選択される、前記発現コンストラクト。

【請求項13】

請求項11または12に記載の発現コンストラクトであって、ポリアデニル化シグナルをさらに含み、ここで場合により、ポリアデニル化シグナルは、ウシ成長ホルモンのポリアデニル化シグナル、SV40のポリアデニル化シグナル、またはHSV-TK-pAである、前記発現コンストラクト。

【請求項14】

請求項11～13のいずれか1項に記載の発現コンストラクトを含むベクターであって、ここで場合により：

(a) 該ベクターは、組換えアデノ随伴ウイルス (rAAV) ベクターである；

(b) 該ベクターは、組換えアデノウイルスベクターであり、ここで場合により、該組換えアデノウイルスベクターは、アデノウイルス血清型2、1、5、6、19、3、11、7、14、16、21、12、18、31、8、9、10、13、15、17、19、20、22、23、24～30、37、40、41、AdHu2、AdHu3、AdHu4、AdHu24、AdHu26、AdHu34、AdHu35、AdHu36、AdHu37、AdHu41、AdHu48、AdHu49、AdHu50、AdC6、AdC7、AdC69、ウシAd3型、イヌAd2型、ヒツジAd、またはブタAd3型から誘導される；

(c) 該ベクターは、組換えレンチウイルスベクターであり、ここで場合により、該組換えレンチウイルスベクターは、水疱性口内炎ウイルス (VSV)、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV)、ロスリパーウイルス (RRV)、エボラウイルス、マールブルグウイルス、モコラウイルス、狂犬病ウイルス、RD114、またはそれらのバリエーションで偽型化したレンチウイルスから誘導される；または

(d) 該ベクターは、rHSVベクターであり、ここで場合により、該rHSVベクターは、rHSV-1またはrHSV-2から誘導される；

前記ベクター。

【請求項15】

請求項14に記載のベクターであって、該ベクターは、rAAVベクターであり、そして、発現コンストラクトに、1つまたはそれ以上のAAVの逆方向末端反復 (ITR) 配列が隣接し、ここで場合により：

(a) 該発現コンストラクトに、2つのAAVのITRが隣接する；および/または

(b) 該AAVのITRは、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAVrh8、AAVrh8R、AAV9、AAV10、AAVrh10、AAV11、AAV12、AAV2R471A、AAV-DJ、ヤギAAV、ウシAAV、またはマウスAAV血清型のITRであり、ここで場合により、該AAVのITRは、AAV2のITRである；

前記ベクター。

【請求項16】

請求項15に記載のベクターであって、rAAVベクターは、5'から3'へ、AAV2のITR、プロモーター、RNAiをコードする核酸、ポリアデニル化シグナル、およびAAV2のITRを含み、ここで場合により：

(a) 該プロモーターは、C B A プロモーターである；

(b) 該ポリアデニル化シグナルは、ウシ成長ホルモンのポリアデニル化シグナルである；および/または

(c) 該 r A A V ベクターは、5' から 3' へ、A A V 2 の I T R、C B A プロモーター、R N A i をコードする核酸、ウシ成長ホルモンのポリアデニル化シグナル、および A A V 2 の I T R を含む；

前記ベクター。

【請求項 17】

請求項 15 または 16 に記載のベクターであって、該ベクターは、スタッファー核酸をさらに含み、ここで場合により：

(a) 該スタッファー核酸は、プロモーターと R N A i をコードする核酸との間に配置されている；および/または

(b) 該スタッファー核酸は、緑色蛍光タンパク質 (G F P) をコードする核酸、ヒトアルファ - 1 - アンチトリプシン (A A T) スタッファー配列、または C 16 P 1 第 16 染色体 P 1 クローン (ヒト C 16) のスタッファー配列を含み、ここで場合により、該スタッファー核酸は、配列番号 13 のヌクレオチド 1692 からヌクレオチド 2720 の核酸配列を含む；

前記ベクター。

【請求項 18】

請求項 15 ~ 17 のいずれか 1 項に記載のベクターであって、該ベクターは、自己相補的な r A A V ベクターであり、ここで場合により、該ベクターは、R N A i をコードする第 1 の核酸配列および R N A i の相補物をコードする第 2 の核酸配列を含み、該第 1 の核酸配列は、その長さのほとんどまたは全てにわたり、第 2 の核酸配列と鎖内の塩基対を形成することができ；そして、ここで場合により、第 1 の核酸配列および第 2 の核酸配列は、突然変異した A A V の I T R によって連結されており、該突然変異した A A V の I T R は、D 領域の欠失を含み、そして末端分解配列の突然変異を含む；

前記ベクター。

【請求項 19】

請求項 14 ~ 18 のいずれか 1 項に記載のベクターを含む細胞であって、ここで場合により、該細胞は、中枢神経系 (C N S) 細胞である、前記細胞。

【請求項 20】

請求項 14 に記載のベクターを含むウイルス粒子であって、ここで：

(a) 該ウイルス粒子は、r A A V ベクターをキャプシド化する A A V 粒子である；

(b) 該ウイルス粒子は、組換えアデノウイルスベクターをキャプシド化するアデノウイルス粒子であって、ここで場合により、該アデノウイルス粒子は、アデノウイルス血清型 2、1、5、6、19、3、11、7、14、16、21、12、18、31、8、9、10、13、15、17、19、20、22、23、24 ~ 30、37、40、41、A d H u 2、A d H u 3、A d H u 4、A d H u 24、A d H u 26、A d H u 34、A d H u 35、A d H u 36、A d H u 37、A d H u 41、A d H u 48、A d H u 49、A d H u 50、A d C 6、A d C 7、A d C 69、ウシ A d 3 型、イヌ A d 2 型、ヒツジ A d、もしくはブタ A d 3 型由来のキャプシド、またはアデノウイルス血清型 5 のキャプシドのバリエーションを含む；

(c) 該ウイルス粒子は、組換えレンチウイルスベクターをキャプシド化するレンチウイルス粒子であって、ここで場合により、該レンチウイルス粒子は、レンチウイルス粒子は、水疱性口内炎ウイルス (V S V)、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (L C M V)、ロスリパーウイルス (R R V)、エボラウイルス、マールブルグウイルス、モコラウイルス、狂犬病ウイルス、R D 114 またはそれらのバリエーションで偽型化したキャプシドを含む；または

(d) 該ウイルス粒子は、組換え H S V ベクターをキャプシド化する H S V 粒子であって、ここで場合により、該 H S V 粒子は、r H S V - 1 粒子または r H S V - 2 粒子であ

る；

前記ウイルス粒子。

【請求項 2 1】

請求項 1 5 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載のベクターを含む組換え A A V (r A A V) 粒子であって、ここで場合により、該 A A V 粒子は、A A V 1、A A V 2、A A V 3、A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 8、A A V r h 8、A A V r h 8 R、A A V 9、A A V 1 0、A A V r h 1 0、A A V 1 1、A A V 1 2、A A V 2 R 4 7 1 A、A A V 2 / 2 - 7 m 8、A A V D J、A A V 2 N 5 8 7 A、A A V 2 E 5 4 8 A、A A V 2 N 7 0 8 A、A A V V 7 0 8 K、ヤギ A A V、A A V 1 / A A V 2 キメラ、ウシ A A V、またはマウス A A V キャプシド r A A V 2 / H B o V 1 血清型キャプシドを含む、

前記 r A A V 粒子。

【請求項 2 2】

請求項 2 1 に記載の r A A V 粒子であって、ここで：

(a) I T R および該 r A A V 粒子のキャプシドは、同じ A A V 血清型から誘導される；または

(b) I T R および該 r A A V 粒子のキャプシドは、異なる A A V 血清型から誘導され、ここで場合により、該 I T R は、A A V 2 から誘導され、該 r A A V 粒子のキャプシドは、A A V 1 から誘導される；

前記 r A A V 粒子。

【請求項 2 3】

請求項 2 0 に記載のウイルス粒子または請求項 2 1 もしくは 2 2 に記載の r A A V 粒子を含む組成物であって、ここで場合により、該組成物は、医薬的に許容される担体をさらに含む、前記組成物。

【請求項 2 4】

疾患を有する哺乳動物のポリペプチドの発言を阻害または低減するための、または哺乳動物の細胞におけるポリペプチドの蓄積を阻害するための、

請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の R N A i ；請求項 1 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載の発現コンストラクト；請求項 1 4 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載のベクター；請求項 2 0 に記載のウイルス粒子；請求項 2 1 または 2 2 に記載の r A A V 粒子；または請求項 2 3 に記載の組成物であって、

ここで、該 R N A i はポリペプチドをコードする R N A を標的化し、ここで場合により、該哺乳動物はヒトである、

前記 R N A i、発現コンストラクト、ベクター、ウイルス粒子、r A A V 粒子、または組成物。

【請求項 2 5】

哺乳動物におけるハンチントン病を処置するための、または哺乳動物における h t t の発現を阻害するための、または哺乳動物における h t t の蓄積を阻害するための、

請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の R N A i ；請求項 1 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載の発現コンストラクト；請求項 1 4 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載のベクター；請求項 2 0 に記載のウイルス粒子；請求項 2 1 または 2 2 に記載の r A A V 粒子；または請求項 2 3 に記載の組成物。

【請求項 2 6】

請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の R N A i ；請求項 1 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載の発現コンストラクト；請求項 1 4 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載のベクター；請求項 2 0 に記載のウイルス粒子；請求項 2 1 または 2 2 に記載の r A A V 粒子；または請求項 2 3 に記載の組成物を含む、

哺乳動物における R N A 干渉を誘導するための、疾患を有する哺乳動物のポリペプチドの発言を阻害または低減するための、哺乳動物の細胞におけるポリペプチドの蓄積を阻害するための、哺乳動物におけるハンチントン病を処置するための、または哺乳動物におけ

る h t t の発現を阻害するための、または哺乳動物における h t t の蓄積を阻害するための、キットであって、

ここで場合により：

(a) 該哺乳動物はヒトである；および / または

(b) 該哺乳動物はハンチントン病を有している、
前記キット。