

【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19年7月5日(2007.7.5)

【公表番号】特表2006-525811(P2006-525811A)
 【公表日】平成18年11月16日(2006.11.16)
 【年通号数】公開・登録公報2006-045
 【出願番号】特願2006-514886(P2006-514886)
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)
 C 1 2 Q 1/68 (2006.01)
 C 1 2 N 1/15 (2006.01)
 C 1 2 N 1/19 (2006.01)
 C 1 2 N 5/10 (2006.01)
 A 6 1 K 48/00 (2006.01)
 A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A
 C 1 2 Q 1/68 A
 C 1 2 N 1/15
 C 1 2 N 1/19
 C 1 2 N 5/00 A
 A 6 1 K 48/00
 A 6 1 K 31/7088

【手続補正書】

【提出日】平成19年5月16日(2007.5.16)

【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】

培養細胞である真核細胞を小干渉性RNA(sirRNA)の分子に付すことを含むRNA干渉により該細胞中の標的遺伝子をサイレンシングさせる方法であって、該sirRNAは、(i)該sirRNAの中央領域にある、該標的遺伝子の転写体の配列と同一の、センス鎖またはアンチセンス鎖の少なくとも11ヌクレオチドの第1の連続的ヌクレオチド配列、または(ii)該sirRNA鎖の3'末端にある、該標的遺伝子の転写体の配列と同一の、センス鎖またはアンチセンス鎖の少なくとも9ヌクレオチドの第2の連続的ヌクレオチド配列を含み、該sirRNAは、該転写体の任意の配列と完全長のセンス鎖またはアンチセンス鎖の配列同一性は無い、上記方法。

【請求項2】

sirRNAが、(i)該sirRNAの中央領域にある、標的遺伝子の転写体の配列と同一の、センス鎖またはアンチセンス鎖の少なくとも11ヌクレオチドの第1の連続的ヌクレオチド配列を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

sirRNAは、標的遺伝子の転写体の配列と同一の16ヌクレオチドより大きいセンス鎖またはアンチセンス鎖の連続的ヌクレオチド配列を含まない、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

siRNAは、標的遺伝子の転写体の配列と同一の15ヌクレオチドより大きいセンス鎖またはアンチセンス鎖の連続的ヌクレオチド配列を含まない、請求項2に記載の方法。

【請求項5】

siRNAは、標的遺伝子の転写体の配列と同一の14ヌクレオチドより大きいセンス鎖またはアンチセンス鎖の連続的ヌクレオチド配列を含まない、請求項2に記載の方法。

【請求項6】

siRNAは、標的遺伝子の転写体の配列と同一の13ヌクレオチドより大きいセンス鎖またはアンチセンス鎖の連続的ヌクレオチド配列を含まない、請求項2に記載の方法。

【請求項7】

siRNAは、標的遺伝子の転写体の配列と同一の12ヌクレオチドより大きいセンス鎖またはアンチセンス鎖の連続的ヌクレオチド配列を含まない、請求項2に記載の方法。

【請求項8】

siRNAが、(ii) 該siRNA鎖の3'末端にある、標的遺伝子の転写体の配列と同一の、センス鎖またはアンチセンス鎖の少なくとも9ヌクレオチドの第2の連続的ヌクレオチド配列を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項9】

siRNAは、標的遺伝子の転写体の配列と同一の16ヌクレオチドより大きいセンス鎖またはアンチセンス鎖の連続的ヌクレオチド配列を含まない、請求項8に記載の方法。

【請求項10】

siRNAは、標的遺伝子の転写体の配列と同一の12ヌクレオチドより大きいセンス鎖またはアンチセンス鎖の連続的ヌクレオチド配列を含まない、請求項8に記載の方法。

【請求項11】

siRNAは、標的遺伝子の転写体の配列と同一の11ヌクレオチドより大きいセンス鎖またはアンチセンス鎖の連続的ヌクレオチド配列を含まない、請求項8に記載の方法。

【請求項12】

siRNAは、標的遺伝子の転写体の配列と同一の10ヌクレオチドより大きいセンス鎖またはアンチセンス鎖の連続的ヌクレオチド配列を含まない、請求項8に記載の方法。

【請求項13】

RNA干渉により、培養細胞である真核細胞中の複数の異なる遺伝子をサイレンシングさせる方法であって、複数の異なる遺伝子のそれぞれの転写体配列は、該複数の異なる遺伝子に共通する9~18ヌクレオチドのヌクレオチド配列を含み、前記細胞を小干渉性RNA (siRNA) の分子に付すことを含み、前記siRNAは、(i)前記共通配列中の配列と同一の少なくとも11ヌクレオチドのセンス鎖またはアンチセンス鎖の中央の連続的ヌクレオチド配列および/または(ii)前記共通配列中の配列と同一の少なくとも9ヌクレオチドの3'センス鎖またはアンチセンス鎖の連続的ヌクレオチド配列を含む方法。

【請求項14】

中央の連続的ヌクレオチド配列は11~15ヌクレオチドの長さである、請求項13に記載の方法。

【請求項15】

中央の連続的ヌクレオチド配列は14~15ヌクレオチドの長さである、請求項13に記載の方法。

【請求項16】

中央の連続的ヌクレオチド配列は13ヌクレオチドの長さである、請求項13に記載の方法。

【請求項17】

中央の連続的ヌクレオチド配列は12ヌクレオチドの長さである、請求項13に記載の方法。

【請求項18】

中央の連続的ヌクレオチド配列は11ヌクレオチドの長さである、請求項13に記載の方法。

【請求項 19】

3'の連続的ヌクレオチド配列が、9～15ヌクレオチドの長さである、請求項13に記載の方法。

【請求項 20】

3'の連続的ヌクレオチド配列が、9～12ヌクレオチドの長さである、請求項13に記載の方法。

【請求項 21】

3'の連続的ヌクレオチド配列が、11ヌクレオチドの長さである、請求項13に記載の方法。

【請求項 22】

3'の連続的ヌクレオチド配列が、10ヌクレオチドの長さである、請求項13に記載の方法。

【請求項 23】

3'の連続的ヌクレオチド配列が、9ヌクレオチドの長さである、請求項13に記載の方法。

【請求項 24】

(a)請求項1～23のいずれか1項に記載の方法を実施すること、および(b)真核細胞をsiRNAに付した後の選択した時点で該真核細胞の発現プロファイルを測定することを含む、該真核細胞に対するsiRNAの作用を測定する方法であって、各発現プロファイルは複数の異なる遺伝子の測定された転写体レベルを含む、上記方法。

【請求項 25】

真核細胞に対するsiRNAの作用を測定する方法であって、
(a)請求項1～23のいずれか1項に記載の方法を実施し、
(b)真核細胞をsiRNAに付した後の複数の異なる各時点で該真核細胞の発現プロファイルを測定し、ここで各発現プロファイルは複数の異なる遺伝子の測定された転写体レベルを含み；そして
(c)該測定された転写体レベルの動力的挙動に基づいて、該複数の遺伝子を異なる動力学群に分類する、ことを含む方法。

【請求項 26】

真核細胞中の1つ以上の候補遺伝子を同定する方法であって、1つ以上の候補遺伝子の発現レベルの変化が真核細胞中の表現型の特徴になり、

(a)請求項1～23のいずれか1項に記載の方法を実施し、
(b)真核細胞へのsiRNAの導入に関連する真核細胞の表現型特徴を同定し、ここで該siRNAは、真核細胞中の標的遺伝子をサイレンシングするように設計され、；
(c)siRNAの導入後の複数の異なる各時点で真核細胞の発現プロファイルを測定し、ここで各発現プロファイルは、複数の異なる遺伝子の測定された転写体レベルを含み；
(d)その転写体レベルが、該標的遺伝子によりコードされるタンパク質のレベルの低下より実質的に速く低下する、該複数の遺伝子から1つ以上の遺伝子を同定し；そして
(e)該1つ以上の遺伝子を1つ以上の候補遺伝子として同定する、ことを含む方法。

【請求項 27】

標的遺伝子によりコードされるタンパク質のレベルがその摂動されないレベルの約50%まで低下する前に、1つ以上の遺伝子の転写体レベルは少なくとも50%低下する、請求項26に記載の方法。

【請求項 28】

タンパク質レベルの低下は、複数の異なる各時点でタンパク質の量を測定することを含む方法によって測定される、請求項26に記載の方法。

【請求項 29】

複数の異なる遺伝子は5個の異なる遺伝子を含む、請求項24～26のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 30】

複数の異なる遺伝子は10個の異なる遺伝子を含む、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 1】

複数の異なる遺伝子は100個の異なる遺伝子を含む、請求項 3 0 に記載の方法。

【請求項 3 2】

複数の異なる遺伝子は1,000個の異なる遺伝子を含む、請求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 3】

複数の異なる遺伝子は10,000個の異なる遺伝子を含む、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 4】

複数の異なる遺伝子は25,000個の異なる遺伝子を含む、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】

請求項 1 ~ 1 2 のいずれか1項に記載の方法を実施することによって製造される、siRNAを含む真核細胞であって、該真核細胞のゲノム中の他の遺伝子の転写体の任意の配列と完全長のセンス鎖またはアンチセンス鎖の配列同一性はない、上記真核細胞。

【請求項 3 6】

真核細胞はヒト細胞である、請求項 1 ~ 3 4 のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 3 7】

真核細胞はヒト細胞である、請求項 3 5 に記載の真核細胞。

【請求項 3 8】

請求項 1 ~ 2 3 のいずれか1項に記載のものと同様のものである、真核細胞の1以上の標的遺伝子をサイレンシングするために使用される、siRNA。

【請求項 3 9】

1以上の遺伝子を標的とし、かつ請求項 1 ~ 2 3 のいずれか1項に記載のものと同様のものである、薬剤として使用するためのsiRNA。

【請求項 4 0】

哺乳動物の疾患または好ましくない症状の治療に使用される、請求項 3 9 に記載のsiRNAであって、該疾患または好ましくない症状の治療するのに、そのダウンレギュレーションが有効である遺伝子を標的とする、上記siRNA。

【請求項 4 1】

哺乳動物の疾患または好ましくない症状を治療するための薬剤の製造におけるsiRNAの使用であって、該疾患または好ましくない症状を治療するのに遺伝子のダウンレギュレーションが有効であり、かつ該siRNAは、該遺伝子を標的とし、かつ請求項 1 ~ 2 3 のいずれか1項に記載されるものと同様のものである、上記使用。

【請求項 4 2】

哺乳動物はヒトである、請求項 3 9 または 4 0 に記載のsiRNA。

【請求項 4 3】

哺乳動物はヒトである、請求項 4 1 に記載の使用。