

【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25年1月24日 (2013.1.24)

【公表番号】特表2010-537639(P2010-537639A)

【公表日】平成22年12月9日 (2010.12.9)

【年通号数】公開・登録公報2010-049

【出願番号】特願2010-523120(P2010-523120)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/113	(2010.01)
A 6 1 K	48/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/12	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	37/02	(2006.01)
A 6 1 P	29/00	(2006.01)
A 6 1 P	1/04	(2006.01)
A 6 1 P	17/00	(2006.01)
A 6 1 P	11/00	(2006.01)
A 6 1 P	9/00	(2006.01)
A 6 1 P	13/12	(2006.01)
A 6 1 P	25/00	(2006.01)
A 6 1 P	5/00	(2006.01)
A 6 1 P	3/00	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 1 2 N	1/21	(2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N	15/00	Z N A G
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 P	31/00	
A 6 1 P	31/12	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	29/00	1 0 1
A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	17/00	
A 6 1 P	11/00	
A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	5/00	
A 6 1 P	3/00	
A 6 1 P	43/00	1 0 7
C 1 2 N	15/00	A
C 1 2 N	5/00	1 0 2
C 1 2 N	1/21	

【手続補正書】

【提出日】平成24年11月22日(2012.11.22)

【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】

18～23ヌクレオチドの長さを有するアンチセンス鎖と12、13、14、15、16、17、18または19ヌクレオチドの長さを有するセンス鎖とを含む二重鎖RNA分子であって、

該アンチセンス鎖が該センス鎖よりも長く；

該センス鎖が該アンチセンス鎖と少なくとも70%相補的であり、該アンチセンス鎖と12、13、14、15、16、17、18または19ヌクレオチド塩基対の二本鎖領域を形成し、

該アンチセンス鎖が標的mRNA配列に対して少なくとも70%相補的であり、

該アンチセンス鎖が該センス鎖に対して1～9ヌクレオチドの3'末端突出および該センス鎖に対して0～8ヌクレオチドの5'末端突出を有し、

該アンチセンス鎖の該3'末端突出が、該標的mRNAと塩基対合し、

該アンチセンス鎖の該5'末端が、該標的mRNAに対して実質的に相補的でなく、そして必要に応じて、A、UまたはdTからなる群から選択される少なくとも1つのヌクレオチドを含み；そして

該二重鎖RNA分子は、真核生物細胞内における選択的な遺伝子サイレンシングを実施することが可能である、二重鎖RNA分子。

【請求項2】

18～23ヌクレオチドの長さを有するアンチセンス鎖と12～17ヌクレオチドの長さを有するセンス鎖とを含む二重鎖RNA分子であって、

該センス鎖が該アンチセンス鎖と少なくとも70%相補的であり、該アンチセンス鎖と12、13、14または15ヌクレオチド塩基対の二本鎖領域を形成し、

該アンチセンス鎖が標的mRNA配列に対して少なくとも70%相補的であり、

該アンチセンス鎖が該センス鎖に対して1～9ヌクレオチドの3'末端突出および該センス鎖に対して0～8ヌクレオチドの5'末端突出を有し、

該アンチセンス鎖の該3'末端突出が、該標的mRNAと塩基対合し、そして

該二重鎖RNA分子は、真核生物細胞内における選択的な遺伝子サイレンシングを実施することが可能である、二重鎖RNA分子。

【請求項3】

18～23ヌクレオチドの長さを有するアンチセンス鎖と12、13、14、15、16、17、18または19ヌクレオチドの長さを有するセンス鎖とを含む二重鎖RNA分子であって、

該アンチセンス鎖が該センス鎖よりも長く；

該センス鎖が該アンチセンス鎖と少なくとも70%相補的であり、該アンチセンス鎖と13、14、15、16、17、18または19ヌクレオチド塩基対の二本鎖領域を形成し、

該アンチセンス鎖が標的mRNA配列に対して少なくとも70%相補的であり、

該アンチセンス鎖が該センス鎖に対して1～9ヌクレオチドの3'末端突出および該センス鎖に対して0～8ヌクレオチドの5'末端突出を有し、

該アンチセンス鎖の該3'末端突出が、該標的mRNAと塩基対合し、

該二重鎖RNA分子は、真核生物細胞内における選択的な遺伝子サイレンシングを実施することが可能であり、そして

選択的な遺伝子サイレンシングが、該アンチセンス鎖と同じmRNA配列に標的化された対称二本鎖siRNAを用いた遺伝子サイレンシングと比較して同等またはそれよりも効果が高く、該対称siRNAは、19～21ヌクレオチドの長さであり、該センス鎖および該アンチセンス鎖の両方に3'末端突出を有する、二重鎖RNA分子。

【請求項4】

18～23ヌクレオチドの長さを有するアンチセンス鎖と12、13、14、15、16、17、18または19ヌクレオチドの長さを有するセンス鎖とを含む二重鎖RNA分子であって、

該アンチセンス鎖が該センス鎖よりも長く；

該センス鎖が該アンチセンス鎖と少なくとも70%相補的であり、該アンチセンス鎖と12、13、14、15、16、17、18または19ヌクレオチド塩基対の二本鎖領域を形成し、

該アンチセンス鎖が標的mRNA配列に対して少なくとも70%相補的であり、

該アンチセンス鎖が該センス鎖に対して1～9ヌクレオチドの3'末端突出および該センス鎖に対して0～8ヌクレオチドの5'末端突出を有し、

該アンチセンス鎖の該3'末端突出が、該標的mRNAと塩基対合し、かつdTdTを含まず；そして

該二重鎖RNA分子は、真核生物細胞内における選択的な遺伝子サイレンシングを実施することが可能である、二重鎖RNA分子。

【請求項5】

18～23ヌクレオチドの長さを有するアンチセンス鎖と12～17ヌクレオチドの長さを有するセンス鎖とを含む二重鎖RNA分子であって、

該センス鎖が該アンチセンス鎖と少なくとも70%相補的であり、該アンチセンス鎖と12、13、14、15、16または17ヌクレオチド塩基対の二本鎖領域を形成し、

該アンチセンス鎖が標的mRNA配列に対して少なくとも70%相補的であり、

該アンチセンス鎖が該センス鎖に対して1～9ヌクレオチドの3'末端突出および該センス鎖に対して0～8ヌクレオチドの5'末端突出を有し、

該アンチセンス鎖の該3'末端突出が、該標的mRNAと塩基対合し、かつdTdTを含まず；そして

該二重鎖RNA分子は、真核生物細胞内における選択的な遺伝子サイレンシングを実施することが可能である、二重鎖RNA分子。

【請求項6】

18～23ヌクレオチドの長さを有するアンチセンス鎖と12、13、14、15、16、17、18または19ヌクレオチドの長さを有するセンス鎖とを含む二重鎖RNA分子であって、

該アンチセンス鎖が該センス鎖よりも長く；

該センス鎖が該アンチセンス鎖と少なくとも70%相補的であり、該アンチセンス鎖と12、13、14、15、16、17、18または19ヌクレオチド塩基対の二本鎖領域を形成し、

該アンチセンス鎖が標的mRNA配列に対して少なくとも70%相補的であり、

該アンチセンス鎖が該センス鎖に対して1～9ヌクレオチドの3'末端突出および該センス鎖に対して0～8ヌクレオチドの5'末端突出を有し、

該アンチセンス鎖の該3'末端突出が、該標的mRNAと塩基対合し、かつdTdTを含まず；

該アンチセンス鎖の該5'末端が、該標的mRNAに対して実質的に相補的でなく、そして必要に応じて、A、UまたはdTからなる群から選択される少なくとも1つのヌクレオチドを含み；そして

該二重鎖RNA分子は、真核生物細胞内における選択的な遺伝子サイレンシングを実施することが可能である、二重鎖RNA分子。

【請求項7】

前記センス鎖が、前記アンチセンス鎖に対して90%相補的である、請求項1～6のいずれか1項に記載の二重鎖RNA分子。

【請求項8】

前記センス鎖が14、15または16ヌクレオチドの長さを有する、請求項1、3、4、5または6に記載の二重鎖RNA分子。

【請求項9】

前記センス鎖が15ヌクレオチドの長さを有する、請求項1～6のいずれか1項に記載の二重鎖RNA分子。

【請求項10】

前記アンチセンス鎖の前記5'末端が、前記標的mRNAに実質的に相補的でなく、必要に応じて、A、UまたはdTからなる群から選択される少なくとも1つのヌクレオチドを含む、請求項2、3、4または5に記載の二重鎖RNA分子。

【請求項11】

前記アンチセンス鎖の前記5'末端がA、UまたはdTを含む、請求項1～6のいずれか1項に記載の二重鎖RNA分子。

【請求項12】

前記アンチセンス鎖が、19～22ヌクレオチドの長さを有する、請求項1～5のいずれか1項に記載の二重鎖RNA分子。

【請求項13】

前記アンチセンス鎖が、前記アンチセンス鎖に対して1～5ヌクレオチドの3'末端突出および前記センス鎖に対して1～8ヌクレオチドの5'末端突出を有する、請求項1～5のいずれか1項に記載の二重鎖RNA分子。

【請求項14】

前記アンチセンス鎖が、前記アンチセンス鎖に対して2～3ヌクレオチドの3'末端突出および前記センス鎖に対して0～4ヌクレオチドの5'末端突出を有する、請求項1～6のいずれか1項に記載の二重鎖RNA分子。

【請求項15】

前記センス鎖が、前記アンチセンス鎖と12、13、14、15または16ヌクレオチドの塩基対二本鎖領域を形成する、請求項1、3、4または6に記載の二重鎖RNA分子。

【請求項16】

前記センス鎖が、15ヌクレオチドの長さであり、前記アンチセンス鎖が、21ヌクレオチドの長さであり、該センス鎖が、該アンチセンス鎖と15塩基対のヌクレオチド二本鎖領域を形成し、該アンチセンス鎖が、該センス鎖に対して1～5ヌクレオチドの3'末端突出および該センス鎖に対して1～4ヌクレオチドの5'末端突出を有する、請求項1～6のいずれか1項に記載の二重鎖RNA分子。

【請求項17】

前記センス鎖が15ヌクレオチドの長さであり、前記アンチセンス鎖が、21ヌクレオチドの長さであり、該センス鎖が該アンチセンス鎖と15塩基対のヌクレオチドの二本鎖領域を形成し、該アンチセンス鎖が該センス鎖に対して3ヌクレオチドの3'末端突出および該センス鎖に対して3ヌクレオチドの5'末端突出を有する、請求項1～6のいずれか1項に記載の二重鎖RNA分子。

【請求項18】

前記アンチセンス鎖の前記3'末端突出がdTdTを含まない、請求項1～3のいずれか1項に記載の二重鎖RNA分子。

【請求項19】

選択的な遺伝子サイレンシングが、前記アンチセンス鎖と同じmRNA配列に標的化された対称二本鎖siRNAを用いた遺伝子サイレンシングと比較して同等またはそれよりも効果が高く、該対称siRNAは、19～21ヌクレオチドの長さを有し、該センス鎖および該アンチセンス鎖の両方に3'末端突出を有する、請求項1、2、4、5または6

に記載の二重鎖RNA分子。

【請求項20】

- (1) 前記二本鎖領域のGC含量が30%～70%である；
- (2) 前記二重鎖RNA分子が少なくとも1つの修飾ヌクレオチドまたはその類似体を含む；
- (3) 前記二重鎖RNA分子が、少なくとも1つの修飾ヌクレオチドまたはその類似体を含み、該少なくとも1個の修飾ヌクレオチドまたはその類似体は、糖、骨格、および／または塩基が修飾されたりボヌクレオチドである；
- (4) 前記二重鎖RNA分子が、少なくとも1つの修飾ヌクレオチドまたはその類似体を含み、該少なくとも1個の修飾ヌクレオチドまたはその類似体が糖、骨格および／または塩基が修飾されたりボヌクレオチドであり、該骨格が修飾されたりボヌクレオチドが別のリボヌクレオチドとのホスホジエステル結合において修飾を有する；
- (5) 前記二重鎖RNA分子が、少なくとも1つの修飾ヌクレオチドまたはその類似体を含み、該少なくとも1個の修飾ヌクレオチドまたはその類似体が糖、骨格および／または塩基が修飾されたりボヌクレオチドであり、該骨格が修飾されたりボヌクレオチドが別のリボヌクレオチドとのホスホジエステル結合において修飾を有し、該ホスホジエステル結合が窒素または硫黄ヘテロ原子のうちの少なくとも1個を含むように修飾されている；
- (7) 前記二重鎖RNA分子が、少なくとも1つの修飾ヌクレオチドまたはその類似体を含み、該少なくとも1個の修飾ヌクレオチドまたはその類似体が非天然塩基または修飾塩基である；
- (8) 前記二重鎖RNA分子が、少なくとも1つの修飾ヌクレオチドまたはその類似体を含み、該少なくとも1個の修飾ヌクレオチドまたはその類似体がイノシンまたはトリチル化塩基を含む；
- (9) 前記二重鎖RNA分子が、少なくとも1つの修飾ヌクレオチドまたはその類似体を含み、該ヌクレオチド類似体が、糖が修飾されたりボヌクレオチドであり、ここで2'-OH基が、H、OR、R、ハロ、SH、SR、NH₂、NHR、NR₂またはCNから選択される基によって置換されており、各Rが独立してC1～C6のアルキル、アルケニルまたはアルキニルであり、ハロがF、Cl、BrまたはIである；
- (10) 前記二重鎖RNA分子が、少なくとも1つの修飾ヌクレオチドまたはその類似体を含み、該ヌクレオチド類似体が、ホスホチオエート基を含む、骨格が修飾されたりボヌクレオチドである；
- (11) 前記二重鎖RNA分子が少なくとも1つの修飾ヌクレオチドまたはその類似体を含み、前記アンチセンス鎖が少なくとも1つのデオキシヌクレオチドを含む；
- (12) 前記二重鎖RNA分子が少なくとも1つの修飾ヌクレオチドまたはその類似体を含み、前記アンチセンス鎖が、少なくとも1つのデオキシヌクレオチドを含み、該少なくとも1つのデオキシヌクレオチドが3'突出、5'突出および二本鎖領域からなる群から選択される1つまたは複数の領域内にある；
- (13) 前記二重鎖RNA分子が少なくとも1つの修飾ヌクレオチドまたはその類似体を含み、前記センス鎖が少なくとも1つのデオキシヌクレオチドを含む；あるいは
- (14) 前記真核生物細胞が哺乳動物細胞または鳥類細胞である；

請求項1～6のいずれか1項に記載の二重鎖RNA分子。

【請求項21】

選択的な遺伝子のサイレンシングが、対称センス鎖およびアンチセンス鎖を含む標準構造のsiRNAと比較してオフターゲットサイレンシングの除去または有意な低減と関連している、請求項1、2、4、5または6に記載の二重鎖RNA分子。