

【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 G C 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リ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リボヌクレオチドであり、該骨格が修飾されたリ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リボヌクレオチドであり、該骨格が修飾されたリ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、糖が修飾されたリ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、C₁、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、骨格が修飾されたリ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。