

【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21年12月17日(2009.12.17)

【公表番号】特表2009-513151(P2009-513151A)

【公表日】平成21年4月2日(2009.4.2)

【年通号数】公開・登録公報2009-013

【出願番号】特願2008-538235(P2008-538235)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 0 7 H 21/02 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/7105 (2006.01)

A 6 1 K 9/127 (2006.01)

A 6 1 K 47/40 (2006.01)

A 6 1 K 47/34 (2006.01)

A 6 1 K 47/46 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 Q 1/02

C 1 2 Q 1/68 Z

C 0 7 H 21/02

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 31/7105

A 6 1 K 9/127

A 6 1 K 47/40

A 6 1 K 47/34

A 6 1 K 47/46

【手続補正書】

【提出日】平成21年10月27日(2009.10.27)

【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】

長さ約15～約60ヌクレオチドの二本鎖領域を含む修飾siRNAであって、二本鎖領域におけるヌクレオチドの約20%未満が修飾ヌクレオチドを含み、対応する未修飾siRNA配列と比べ免疫刺激性が小さく、かつ標的配列の発現を抑制することができる、修飾siRNA。

【請求項2】

2'-O-メチル(2'OMe)ヌクレオチド、2'-デオキシ-2'-フルオロ(2'F)ヌクレオチド、2'-デオキシヌクレオチド、2'-O-(2-メトキシエチル)(MOE)ヌクレオチド、ロック核酸(LNA)ヌクレオチド、およびそれらの混合物からなる群より選択される修飾ヌクレオチドを含む、請求項1記載の修飾siRNA。

【請求項3】

2'OMe-グアノシンヌクレオチド、2'OMe-ウリジンヌクレオチド、2'OMe-アデノシンヌク

レオチド、およびそれらの混合物からなる群より選択される2'OMeヌクレオチドを含む、請求項1~2のいずれか一項記載の修飾siRNA。

【請求項4】

2'OMe-シトシンヌクレオチドを含まない、請求項1~3のいずれか一項記載の修飾siRNA。

【請求項5】

一方の鎖または両方の鎖に修飾ヌクレオチドを含む、請求項1~4のいずれか一項記載の修飾siRNA。

【請求項6】

2'OMe-グアノシンヌクレオチド、2'OMe-ウリジンヌクレオチド、またはそれらの混合物を含む、請求項5記載の修飾siRNA。

【請求項7】

二本鎖領域におけるヌクレオチドの約15%未満が修飾ヌクレオチドを含む、請求項1~6のいずれか一項記載の修飾siRNA。

【請求項8】

二本鎖領域におけるヌクレオチドの約5%~約20%が修飾ヌクレオチドを含む、請求項1~6のいずれか一項記載の修飾siRNA。

【請求項9】

二本鎖領域におけるヌクレオチドの約10%~約20%が修飾ヌクレオチドを含む、請求項1~6のいずれか一項記載の修飾siRNA。

【請求項10】

対応する未修飾siRNA配列と比べ少なくとも約80%免疫刺激性が小さい、請求項1~9のいずれか一項記載の修飾siRNA。

【請求項11】

対応する未修飾siRNA配列のIC<sub>50</sub>の10倍以下のIC<sub>50</sub>を有する、請求項1~10のいずれか一項記載の修飾siRNA。

【請求項12】

一方の鎖または両方の鎖に3'突出部を含む、請求項1~11のいずれか一項記載の修飾siRNA。

【請求項13】

3'突出部を含まない、請求項1~11のいずれか一項記載の修飾siRNA。

【請求項14】

担体系をさらに含む、請求項1~13のいずれか一項記載の修飾siRNA。

【請求項15】

担体系が、核酸-脂質粒子、リポソーム、ミセル、ウイルソーム(virosome)、核酸複合体、およびそれらの混合物からなる群より選択される、請求項14記載の修飾siRNA。

【請求項16】

請求項1~15のいずれか一項記載の修飾siRNAおよび薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物。

【請求項17】

長さ約15~約60ヌクレオチドの二本鎖領域を含む修飾siRNAであって、二本鎖領域におけるヌクレオチドのうちの少なくとも2つが、修飾グアノシンヌクレオチド、修飾ウリジンヌクレオチド、およびそれらの混合物からなる群より選択される修飾ヌクレオチドを含み、対応する未修飾siRNA配列と比べ免疫刺激性が小さく、かつ標的配列の発現を抑制することができる、修飾siRNA。

【請求項18】

2'OMe-グアノシンヌクレオチド、2'OMe-ウリジンヌクレオチド、およびそれらの混合物からなる群より選択される修飾ヌクレオチドを含む、請求項17記載の修飾siRNA。

【請求項19】

一方の鎖または両方の鎖に修飾ヌクレオチドを含む、請求項17~18のいずれか一項記載

の修飾siRNA。

【請求項 20】

二本鎖領域におけるヌクレオチドの約30%未満が修飾ヌクレオチドを含む、請求項17~19のいずれか一項記載の修飾siRNA。

【請求項 21】

二本鎖領域におけるヌクレオチドの約25%未満が修飾ヌクレオチドを含む、請求項17~19のいずれか一項記載の修飾siRNA。

【請求項 22】

二本鎖領域におけるヌクレオチドの約20%未満が修飾ヌクレオチドを含む、請求項17~19のいずれか一項記載の修飾siRNA。

【請求項 23】

対応する未修飾siRNA配列と比べ少なくとも約80%免疫刺激性が小さい、請求項17~22のいずれか一項記載の修飾siRNA。

【請求項 24】

対応する未修飾siRNA配列の $IC_{50}$ の10倍以下の $IC_{50}$ を有する、請求項17~23のいずれか一項記載の修飾siRNA。

【請求項 25】

修飾siRNAの一方の鎖または両方の鎖に3'突出部を含む、請求項17~24のいずれか一項記載の修飾siRNA。

【請求項 26】

3'突出部を含まない、請求項17~24のいずれか一項記載の修飾siRNA。

【請求項 27】

担体系をさらに含む、請求項17~26のいずれか一項記載の修飾siRNA。

【請求項 28】

請求項17~27のいずれか一項記載の修飾siRNAおよび薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物。

【請求項 29】

請求項1または17記載の修飾siRNA；

カチオン性脂質；および

非カチオン性脂質

を含む核酸-脂質粒子。

【請求項 30】

カチオン性脂質が、N,N-ジオレイル-N,N-ジメチルアンモニウムクロライド (DODAC)、N,N-ジステアリル-N,N-ジメチルアンモニウムブロマイド (DDAB)、N-(1-(2,3-ジオレイルオキシ)プロピル)-N,N,N-トリメチルアンモニウムクロライド (DOTAP)、N-(1-(2,3-ジオレイルオキシ)プロピル)-N,N,N-トリメチルアンモニウムクロライド (DOTMA)、N,N-ジメチル-2,3-ジオレイルオキシプロピルアミン (DODMA)、1,2-ジリノレイルオキシ-N,N-ジメチルアミノプロパン (DLinDMA)、1,2-ジリノレニルオキシ-N,N-ジメチルアミノプロパン (DLendMA)、およびそれらの混合物からなる群より選択されるメンバーである、請求項29記載の核酸-脂質粒子。

【請求項 31】

非カチオン性脂質が、ジステアロイルフォスファチジルコリン (DSPC)、ジオレオイルフォスファチジルエタノールアミン (DOPE)、パルミトイルオレオイル-フォスファチジルコリン (POPC)、パルミトイルオレオイル-フォスファチジルエタノールアミン (POPE)、パルミトイルオレオイル-フォスファチジルグリセロール (POPG)、ジパルミトイル-フォスファチジルコリン (DPPC)、ジパルミトイル-フォスファチジルエタノールアミン (DPPE)、ジミリストイル-フォスファチジルエタノールアミン (DMPE)、ジステアロイル-フォスファチジルエタノールアミン (DSPE)、モノメチル-フォスファチジルエタノールアミン、ジメチル-フォスファチジルエタノールアミン、ジェライドイル-フォスファチジルエタノールアミン (DEPE)、ステアロイルオレオイル-フォスファチジルエタノール

アミン (SOPE)、卵 (egg) フォスファチジルコリン (EPC)、コレステロール、およびそれらの混合物からなる群より選択されるメンバーである、請求項29記載の核酸-脂質粒子。

【請求項 3 2】

粒子の凝集を阻害するコンジュゲートされた脂質をさらに含む、請求項29記載の核酸-脂質粒子。

【請求項 3 3】

粒子の凝集を阻害するコンジュゲートされた脂質が、ポリエチレングリコール (PEG) -脂質コンジュゲート、ポリアミド (ATTA) -脂質コンジュゲート、およびそれらの混合物からなる群より選択されるメンバーである、請求項32記載の核酸-脂質粒子。

【請求項 3 4】

PEG-脂質が、PEG-ジアシルグリセロール、PEG-ジアルキルオキシプロピル、PEG-リン脂質、PEG-セラミド、およびそれらの混合物からなる群より選択されるメンバーである、請求項33記載の核酸-脂質粒子。

【請求項 3 5】

粒子の凝集を阻害するコンジュゲートされた脂質がポリエチレングリコール (PEG) -ジアルキルオキシプロピル (PEG-DAA) コンジュゲートを含む、請求項33記載の核酸-脂質粒子。

【請求項 3 6】

PEG-DAAコンジュゲートがPEG-ジラウリルオキシプロピル (C12)、PEG-ジミリスチルオキシプロピル (C14)、PEG-ジパルミチルオキシプロピル (C16)、およびPEG-ジステアリルオキシプロピル (C18) からなる群より選択されるメンバーである、請求項35記載の核酸-脂質粒子。

【請求項 3 7】

カチオン性脂質が粒子中に存在する全脂質の約2mol% ~ 約60mol%を含む、請求項29記載の核酸-脂質粒子。

【請求項 3 8】

非カチオン性脂質が粒子中に存在する全脂質の約5mol% ~ 約90mol%を含む、請求項29記載の核酸-脂質粒子。

【請求項 3 9】

PEG-DAAコンジュゲートが粒子中に存在する全脂質の約0.5mol% ~ 約20mol%を含む、請求項35記載の核酸-脂質粒子。

【請求項 4 0】

コレステロールをさらに含む、請求項29記載の核酸-脂質粒子。

【請求項 4 1】

コレステロールが粒子中に存在する全脂質の約10mol% ~ 約60mol%を含む、請求項40記載の核酸-脂質粒子。

【請求項 4 2】

核酸が核酸-脂質粒子の中に完全に封入されている、請求項29記載の核酸-脂質粒子。

【請求項 4 3】

約50nm ~ 約150nmの直径中央値を有する、請求項29記載の核酸-脂質粒子。

【請求項 4 4】

請求項29記載の核酸-脂質粒子および薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物。

【請求項 4 5】

以下の工程を含む、免疫刺激特性を有するsiRNAを修飾するための方法：

(a) 標的配列の発現を抑制することができ、かつ長さ約15 ~ 約60ヌクレオチドの二本鎖配列を含む未修飾siRNA配列を提供する工程；および

(b) センスまたはアンチセンス鎖における少なくとも1つのヌクレオチドを修飾ヌクレオチドに置換することによってsiRNAを修飾し、それによって未修飾siRNA配列と比べ免疫刺激性が小さく、かつ標的配列の発現を抑制することができる修飾siRNAを作製する工程

。

【請求項 46】

修飾ヌクレオチドが、2'-O-メチル(2'OMe)ヌクレオチド、2'-デオキシ-2'-フルオロ(2'F)ヌクレオチド、2'-デオキシヌクレオチド、2'-O-(2-メトキシエチル)(MOE)ヌクレオチド、ロック核酸(LNA)ヌクレオチド、およびそれらの混合物からなる群より選択される、請求項45記載の方法。

【請求項 47】

修飾ヌクレオチドが、2'OMe-グアノシンヌクレオチド、2'OMe-ウリジンヌクレオチド、2'OMe-アデノシンヌクレオチド、およびそれらの混合物からなる群より選択される、請求項45記載の方法。

【請求項 48】

(c)レスポnder細胞が検出可能な免疫応答を産生するのに好適な条件下で修飾siRNAを哺乳動物レスポnder細胞と接触させることによって、修飾siRNAの免疫刺激性がより小さいことを確認する工程をさらに含む、請求項45記載の方法。

【請求項 49】

以下の工程を含む、免疫刺激特性を有するsiRNAを同定および修飾するための方法：

(a)レスポnder細胞が検出可能な免疫応答を産生するのに好適な条件下で未修飾siRNA配列を哺乳動物レスポnder細胞と接触させる工程；

(b)レスポnder細胞における検出可能な免疫応答の存在によって未修飾siRNA配列を免疫刺激性のsiRNAとして同定する工程；および

(c)少なくとも1つのヌクレオチドを修飾ヌクレオチドに置換することによって免疫刺激性のsiRNAを修飾し、それによって未修飾siRNA配列と比べ免疫刺激性が小さい修飾siRNA配列を作製する工程。

【請求項 50】

修飾ヌクレオチドが、2'-O-メチル(2'OMe)ヌクレオチド、2'-デオキシ-2'-フルオロ(2'F)ヌクレオチド、2'-デオキシヌクレオチド、2'-O-(2-メトキシエチル)(MOE)ヌクレオチド、ロック核酸(LNA)ヌクレオチド、およびそれらの混合物からなる群より選択される、請求項49記載の方法。

【請求項 51】

修飾ヌクレオチドが、2'OMe-グアノシンヌクレオチド、2'OMe-ウリジンヌクレオチド、2'OMe-アデノシンヌクレオチド、およびそれらの混合物からなる群より選択される、請求項49記載の方法。

【請求項 52】

薬学的組成物を製剤化するための、請求項1～15または17～27のいずれか一項記載の修飾siRNAの使用。

【請求項 53】

薬学的組成物を製剤化するための、請求項29～43のいずれか一項記載の核酸-脂質粒子の使用。

【請求項 54】

細胞における標的配列の発現を抑制するための、請求項1～15または17～27のいずれか一項記載の修飾siRNAの使用。

【請求項 55】

細胞における標的配列の発現を抑制するための、請求項29～43のいずれか一項記載の核酸-脂質粒子の使用。

【請求項 56】

哺乳動物対象における標的配列の発現を抑制するための、請求項1～15または17～27のいずれか一項記載の修飾siRNAの使用。

【請求項 57】

哺乳動物対象における標的配列の発現を抑制するための、請求項29～43のいずれか一項

記載の核酸-脂質粒子の使用。

【請求項 58】

哺乳動物対象における標的配列の発現を抑制する薬学的組成物を製剤化するための、請求項1～15または17～27のいずれか一項記載の修飾siRNAの使用。

【請求項 59】

哺乳動物対象における標的配列の発現を抑制する薬学的組成物を製剤化するための、請求項29～43のいずれか一項記載の核酸-脂質粒子の使用。