

【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18年8月3日(2006.8.3)

【公表番号】特表2005-533517(P2005-533517A)

【公表日】平成17年11月10日(2005.11.10)

【年通号数】公開・登録公報2005-044

【出願番号】特願2004-524748(P2004-524748)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 6 1 K 31/7105 (2006.01)

A 6 1 P 31/12 (2006.01)

A 6 1 P 31/16 (2006.01)

A 6 1 P 31/20 (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)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 6 1 K 31/7105

A 6 1 P 31/12

A 6 1 P 31/16

A 6 1 P 31/20

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成18年6月15日(2006.6.15)

【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】

患者においてウイルスを不活性化するための薬学的組成物であって、有効量の修飾siRNAを含む、薬学的組成物。

【請求項2】

修飾siRNAが2'修飾siRNAである、請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項3】

修飾がsiRNAの少なくとも1つのリボヌクレオチドの2'位に存在する、請求項2記載の薬学的組成物。

【請求項4】

修飾が、フルオロ-、メチル-、メトキシエチル-、およびプロピル-修飾からなる群より選択される、請求項1、2または3記載の薬学的組成物。

【請求項5】

フルオロ-修飾が、2'-フルオロ-修飾または2',2'-フルオロ-修飾である、請求項4記載

の薬学的組成物。

【請求項6】

siRNAのピリミジンが修飾され、かつ該ピリミジンがシトシン、シトシン誘導体、ウラシル、ウラシル誘導体、またはそれらの組み合わせである、請求項1~5のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項7】

siRNAの両方の鎖が少なくとも1つの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薬学的組成物。

【請求項8】

ウイルスが、C型肝炎ウイルス(HCV)、A型肝炎ウイルス、B型肝炎ウイルス、D型肝炎ウイルス、E型肝炎ウイルス、エボラウイルス、インフルエンザウイルス、ロタウイルス、レオウイルス、レトロウイルス、ポリオウイルス、ヒトパピローマウイルス(HPV)、メタニューモウイルス、およびコロナウイルスからなる群より選択される、請求項1~7のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項9】

ウイルスがC型肝炎ウイルスである、請求項1~8のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項10】

siRNAが以下の段階により調製される、請求項1~9のいずれか一項記載の薬学的組成物

- ：
- (a)低分子干渉RNA(siRNA)を設計するためにHCVゲノムにおいて標的ヌクレオチド配列を同定する段階；および
 - (b)少なくとも1つの修飾ヌクレオチドを含むように修飾されたsiRNAを作製する段階。

【請求項11】

siRNAが以下の段階により調製される、請求項1~9のいずれか一項記載の薬学的組成物

- ：
- (a)低分子干渉RNA(siRNA)を設計するためにウイルスゲノムにおいて標的ヌクレオチド配列を同定する段階；および
 - (b)少なくとも1つの修飾ヌクレオチドを含むように修飾されたsiRNAを作製する段階。

【請求項12】

標的ヌクレオチド配列が、5'-非翻訳領域(5'-UTR)、3'-非翻訳領域(3'-UTR)、コア、およびNS3ヘリカーゼからなる群より選択される、請求項10記載の薬学的組成物。

【請求項13】

siRNAが、siRNA5、siRNAC1、siRNAC2、siRNA5B1、siRNA5B2、またはsiRNA5B4である、請求項1~12のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項14】

siRNAがリボヌクレアーゼに耐性であり、かつウイルス複製を阻害する能力を保持する、修飾リボヌクレオチドを含むsiRNA。

【請求項15】

修飾siRNAが2'修飾siRNAである、請求項14記載のsiRNA。

【請求項16】

修飾がsiRNAの少なくとも1つのリボヌクレオチドの2'位に存在する、請求項15記載のsiRNA。

【請求項17】

修飾が、フルオロ-、メチル-、メトキシエチル-、およびプロピル-修飾からなる群より選択される、請求項14~16のいずれか一項記載のsiRNA。

【請求項18】

フルオロ-修飾が、2'-フルオロ-修飾または2',2'-フルオロ-修飾である、請求項17記載のsiRNA。

【請求項19】

siRNAのピリミジンが修飾され、かつ該ピリミジンがシトシン、シトシン誘導体、ウラ

シル、ウラシル誘導体、またはそれらの組み合わせである、請求項14～18のいずれか一項記載のsiRNA。

【請求項20】

siRNAの両方の鎖が修飾ヌクレオチドを含む、請求項14～19のいずれか一項記載のsiRNA。

【請求項21】

siRNAがウイルスゲノムにおける標的ヌクレオチド配列と相互作用する、請求項14～20のいずれか一項記載のsiRNA。

【請求項22】

ウイルスが、C型肝炎ウイルス(HCV)、A型肝炎ウイルス、B型肝炎ウイルス、D型肝炎ウイルス、E型肝炎ウイルス、エボラウイルス、インフルエンザウイルス、ロタウイルス、レオウイルス、レトロウイルス、ポリオウイルス、ヒトパピローマウイルス(HPV)、メタニューモウイルス、およびコロナウイルスからなる群より選択される、請求項21記載のsiRNA。

【請求項23】

ウイルスがC型肝炎ウイルス(HCV)である、請求項22記載のsiRNA。

【請求項24】

以下の段階を含む、ウイルスにおける核酸配列を標的にする修飾siRNAを作製する方法：

- (a) 標的因子のゲノムに及ぶ少なくとも1つの鎖において少なくとも1つの修飾リボヌクレオチドを含む修飾二本鎖RNA(dsRNA)断片を調製する段階；および
- (b) 該修飾dsRNA断片を組換えヒトダイサー(Dicer)で切断し、1つより多い修飾siRNAを生じる段階。

【請求項25】

以下の段階をさらに含む、請求項24記載の方法：

- (c) 修飾siRNAを単離する段階。

【請求項26】

標的因子がウイルスである、請求項24または25記載の方法。

【請求項27】

ウイルスが、C型肝炎ウイルス(HCV)、A型肝炎ウイルス、B型肝炎ウイルス、D型肝炎ウイルス、E型肝炎ウイルス、エボラウイルス、インフルエンザウイルス、ロタウイルス、レオウイルス、レトロウイルス、ポリオウイルス、ヒトパピローマウイルス(HPV)、メタニューモウイルス、およびコロナウイルスからなる群より選択される、請求項26記載の方法。

【請求項28】

患者においてウイルスを不活性化するための薬学的組成物であって、有効量の約10～約30リボヌクレオチドからなる修飾siRNAを含む薬学的組成物。

【請求項29】

修飾siRNAが約19～約23リボヌクレオチドからなる、請求項28記載の薬学的組成物。

【請求項30】

修飾siRNAが2'修飾siRNAである、請求項28または29記載の薬学的組成物。

【請求項31】

修飾がsiRNAの少なくとも1つのリボヌクレオチドの2'位に存在する、請求項28～30のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項32】

修飾が、フルオロ-、メチル-、メトキシエチル-、およびプロピル-修飾からなる群より選択される、請求項28～31のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項33】

フルオロ-修飾が、2'-フルオロ-修飾または2',2'-フルオロ-修飾である、請求項32記載の薬学的組成物。

【請求項34】

siRNAのピリミジンが修飾され、かつ該ピリミジンがシトシン、シトシン誘導体、ウラシル、ウラシル誘導体、またはそれらの組み合わせである、請求項28～33のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項35】

siRNAの両方の鎖が修飾ヌクレオチドを含む、請求項28～34のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項36】

ウイルスが、C型肝炎ウイルス(HCV)、A型肝炎ウイルス、B型肝炎ウイルス、D型肝炎ウイルス、E型肝炎ウイルス、エボラウイルス、インフルエンザウイルス、ロタウイルス、レオウイルス、レトロウイルス、ポリオウイルス、ヒトパピローマウイルス(HPV)、メタニューモウイルス、およびコロナウイルスからなる群より選択される、請求項28～35のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項37】

ウイルスがC型肝炎ウイルス(HCV)である、請求項28～36のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項38】

siRNAが以下の段階により調製される、請求項28～37のいずれか一項記載の薬学的組成物：

- (a)低分子干渉RNA(siRNA)を設計するためにHCVゲノムにおいて標的ヌクレオチド配列を同定する段階；および
- (b)少なくとも1つの修飾ヌクレオチドを含むように修飾されたsiRNAを作製する段階。

【請求項39】

siRNAが以下の段階により調製される、請求項28～37のいずれか一項記載の薬学的組成物：

- (a)低分子干渉RNA(siRNA)を設計するためにウイルスゲノムにおいて標的ヌクレオチド配列を同定する段階；および
- (b)少なくとも1つの修飾ヌクレオチドを含むように修飾されたsiRNAを作製する段階。

【請求項40】

標的ヌクレオチド配列がHCV複製に必要な保存ヌクレオチド配列を含む、請求項38記載の薬学的組成物。

【請求項41】

保存ヌクレオチド配列が、5'-非翻訳領域(5'-UTR)、3'-非翻訳領域(3'-UTR)、コア、およびNS3ヘリカーゼからなる群より選択される、請求項40記載の薬学的組成物。

【請求項42】

siRNAが、siRNA5、siRNAC1、siRNAC2、siRNA5B1、siRNA5B2、またはsiRNA5B4である、請求項28～41のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項43】

C型肝炎ウイルス(HCV)の複製を阻害する約10ヌクレオチドから約30ヌクレオチドまでの二本鎖RNA分子。

【請求項44】

siRNA5、siRNAC1、siRNAC2、siRNA5B1、siRNA5B2、またはsiRNA5B4のヌクレオチド配列と少なくとも80%同一のヌクレオチド配列を含む、請求項43記載の二本鎖RNA分子。

【請求項45】

請求項43または44記載の二本鎖RNA分子を含む薬学的組成物であって、該二本鎖RNA分子のヌクレオチド配列がHCVヌクレオチド配列に対応し、肝細胞においてHCVに対して標的RNA干渉を誘導する、薬学的組成物。

【請求項46】

請求項43または44記載の二本鎖RNA分子を含む薬学的組成物であって、C型肝炎ウイルス(HCV)に感染した細胞においてHCVの複製を阻害する、薬学的組成物。

【請求項 47】

請求項43または44記載のRNA分子をコードするDNAセグメントを含むベクター。

【請求項 48】

二本鎖RNA分子のセンス鎖が第一プロモーターに機能的に連結され、かつ二本鎖RNA分子のアンチセンス鎖が第二プロモーターに機能的に連結される、請求項47記載のベクター。

【請求項 49】

第一および第二プロモーターがU6およびH1からなる群より選択される、請求項48記載のベクター。

【請求項 50】

第一および第二プロモーターが同一である、請求項48または49記載のベクター。

【請求項 51】

RNA分子のセンス鎖およびアンチセンス鎖が単一のプロモーターの制御下にある、請求項47記載のベクター。

【請求項 52】

単一のプロモーターがU6およびH1からなる群より選択される、請求項51記載のベクター。

【請求項 53】

請求項47～52のいずれか一項記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項 54】

請求項47～52のいずれか一項記載のベクターで細胞をトランスフェクションする段階を含む、C型肝炎ウイルス(HCV)を保有する細胞においてHCVの複製を阻害する方法。

【請求項 55】

被検体においてC型肝炎を治療するための薬学的組成物であって、請求項43または44記載のRNA分子を含む薬学的組成物。

【請求項 56】

被検体においてC型肝炎を治療するための薬学的組成物であって、請求項47～52のいずれか一項記載のベクターを含む、薬学的組成物。

【請求項 57】

標的因子またはウイルスに対してRNA干渉を仲介し、かつ少なくとも1つの受容体結合リガンドに連結されている、約10ヌクレオチド長から約30ヌクレオチド長までの二本鎖RNA分子を含む修飾siRNA分子。

【請求項 58】

受容体結合リガンドがsiRNA分子の5'末端または3'末端に付着する、請求項57記載の修飾siRNA分子。

【請求項 59】

受容体結合リガンドがsiRNA分子の複数の末端に付着する、請求項57または58の修飾siRNA分子。

【請求項 60】

受容体結合リガンドが、コレステロール、HBV表面抗原、低密度リポタンパク質、HIV-1表面抗原、インフルエンザウイルス表面抗原、RSV表面抗原、HPV表面抗原、およびポリオウイルス表面抗原からなる群より選択される、請求項57～59のいずれか一項記載の修飾siRNA分子。

【請求項 61】

受容体結合リガンドがコレステロールである、請求項57～60のいずれか一項記載の修飾siRNA分子。

【請求項 62】

少なくとも1つのリボヌクレオチドの2'位において修飾をさらに含む、請求項57～61のいずれか一項記載の修飾siRNA分子であって、少なくとも1つのリボヌクレオチドの2'位における修飾が該siRNAを分解に対して耐性にする、修飾siRNA分子。

【請求項 63】

少なくとも1つのリボヌクレオチドの2'位における修飾が、2'-フルオロ-修飾または2', 2'-フルオロ-修飾である、請求項62記載の修飾siRNA分子。

【請求項64】

患者において標的化RNA干渉を誘導する薬学的組成物であって、有効量の請求項57～63のいずれか一項記載のsiRNAを含む、薬学的組成物。

【請求項65】

有効量の請求項61記載のsiRNAを含む、請求項64記載の薬学的組成物。

【請求項66】

有効量の請求項63記載のsiRNAを含む、請求項64記載の薬学的組成物。