

【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27年12月24日 (2015.12.24)

【公開番号】特開2015-109851 (P2015-109851A)

【公開日】平成27年6月18日 (2015.6.18)

【年通号数】公開・登録公報2015-039

【出願番号】特願2015-6421 (P2015-6421)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 17/02 (2006.01)

A 6 1 P 41/00 (2006.01)

A 6 1 P 31/14 (2006.01)

A 6 1 P 1/16 (2006.01)

A 6 1 P 1/18 (2006.01)

A 6 1 P 13/12 (2006.01)

A 6 1 P 9/00 (2006.01)

A 6 1 P 11/00 (2006.01)

A 6 1 P 7/00 (2006.01)

A 6 1 P 27/02 (2006.01)

A 6 1 P 9/10 (2006.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 P 17/02

A 6 1 P 41/00

A 6 1 P 31/14

A 6 1 P 1/16

A 6 1 P 1/18

A 6 1 P 13/12

A 6 1 P 9/00

A 6 1 P 11/00

A 6 1 P 7/00

A 6 1 P 27/02

A 6 1 P 9/10

A 6 1 K 31/7088

【手続補正書】

【提出日】平成27年11月10日 (2015.11.10)

【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】

下記の構造 (A 2) :

(A 2) 5 ' N ¹ - (N) x - Z 3 ' (アンチセンス鎖)

3' Z' - N² - (N') y - z' ' 5' (センス鎖)

ここで、 N^2 、 N および N' の各々は、非修飾リボヌクレオチドまたは修飾リボヌクレオチドまたは非定型部分であり、

(N) x および (N ') y の各々は、各々の連続する N または N ' が隣接する N または N ' に共有結合によって連結したオリゴヌクレオチドであり、

x と y の各々は、独立して 17 ~ 39 の間の整数であり、

(N ') y の配列は (N) x の配列に相補性を有し、 (N) x は、標的 R N A の連続する配列に相補性を有し、

N¹は(N)xに共有結合的に結合しており、標的RNAに対してミスマッチであるか、
または、標的RNAに対する相補的DNA部分であり、

N¹ は、天然または修飾ウリジン、デオキシリボウリジン、リボチミジン、デオキシリボチミジン、アデノシンまたはデオキシアデノシンからなる群から選択される部分であり、

z' は存在しても、または不在であってもよいが、存在する場合は $N^2 - (N')y$ の 5' 末端に共有結合的に付着したキャッピング部分であり、

ZおよびZ'の各々は、独立して、存在するか、または不在であるが、存在する場合は、独立して、それが存在する鎖の3'末端に共有結合的に付着した、1～5個の連続するヌクレオチド、連続する非ヌクレオチド部分またはその組合せであり、

センス鎖は配列番号 101 に記載の配列を含み、アンチセンス鎖は配列番号 168 に記載の配列を含む

を有する、二本鎖核酸化合物。

【請求項 2】

x = y = 18である、請求項1に記載の二本鎖核酸化合物。

【請求項 3】

構造

【化 1】

5' UCACCCAUGUGUCUCAGGA -Z 3' (アンチセンス配列番号 168)
|||||||
3' Z'-AGUGGGUACACAGAGUCCU -z'' 5' (センス配列番号 101)

を有し、ここで、各々の

【化 2】

1

は、リボヌクレオチド間の塩基対合を表し、

A、C、GおよびUの各々は、独立して、非修飾もしくは修飾リボヌクレオチド、または非定型部分であり、

A、C、GおよびUの各々は、隣接するA、C、GまたはUに共有結合で連結しており、ZおよびZ'の各々は、独立して、存在するか、または不在であるが、存在する場合は、

独立して、それが存在する鎖の 3' 末端に共有結合的に付着した、1 ~ 5 個の連続するヌクレオチド、または非ヌクレオチド部分またはその組合せであり、

z' 'は存在しても、または不在であってもよいが、存在する場合はセンス鎖の5'末端に共有結合的に付着したキャッピング部分である、請求項2に記載の二本鎖核酸化合物。

【請求項 4】

A、C、GおよびUの各々は、非修飾リボヌクレオチドであり、z'、ZおよびZ'
は不在である、請求項3に記載の二本鎖核酸化合物。

【請求項 5】

Z および Z' の各々が存在する、請求項 3 に記載の二本鎖核酸化合物。

【請求項 6】

Z および Z' の各々が、独立して、ヌクレオチド部分または非ヌクレオチド部分を含む、請求項 5 に記載の二本鎖核酸化合物。

【請求項 7】

Z' が C 3 P i または C 3 O H を含み、Z が C 3 P i - C 3 O H を含み、請求項 5 または 6 に記載の二本鎖核酸化合物。

【請求項 8】

アンチセンス鎖が、1、8 および 15 位 (5' > 3') に 2' - O - メチル糖修飾リボヌクレオチドを含む、請求項 3、5 ~ 7 のいずれか一項に記載の二本鎖核酸化合物。

【請求項 9】

アンチセンス鎖が、5、6、7 または 8 位 (5' > 3') に 2' 5' リボヌクレオチドを含む、請求項 3、5 ~ 8 のいずれか一項に記載の二本鎖核酸化合物。

【請求項 10】

センス鎖が、9 または 10 位 (5' > 3') に 2' 5' リボヌクレオチドを含む、請求項 3、5 ~ 9 のいずれか一項に記載の二本鎖核酸化合物。

【請求項 11】

センス鎖が、4、11、13 および 17 位 (5' > 3') に 2' - O - メチル糖修飾リボヌクレオチドを含む、請求項 3、5 ~ 10 のいずれか一項に記載の二本鎖核酸化合物。

【請求項 12】

z' ' が存在し、キャッピング部分が、無塩基リボース部分およびその修飾体、逆位無塩基リボース部分およびその修飾体、逆位無塩基デオキシリボース部分およびその修飾体、無塩基デオキシリボース部分およびその修飾体、C 6 - イミノ - P i、ミラーヌクレオチド、5' O Me ヌクレオチド、4' , 5' - メチレンヌクレオチド、1 - (- D - エリスロフラノシル) ヌクレオチド、4' チオヌクレオチド、炭素環式ヌクレオチド、5' - アミノ - アルキルホスフェート、1, 3 - ジアミノ - 2 - プロピルホスフェート、3 - アミノプロピルホスフェート、6 - アミノヘキシルホスフェート、12 - アミノドデシルホスフェート、ヒドロキシプロピルホスフェート、1, 5 - アンヒドロヘキシトールヌクレオチド、アルファ - ヌクレオチド、トレオ - ペントフラノシルヌクレオチド、非環式 3' , 4' - セコヌクレオチド、3, 4 - ジヒドロキシブチルヌクレオチド、3, 5 - ジヒドロキシペンチルヌクレオチド、5' - 5' - 逆位無塩基部分、1, 4 - ブタンジオールホスフェート、5' - アミノおよび架橋または非架橋メチルホスホネートおよび 5' - メルカプト部分から選択される、請求項 3、5 ~ 11 のいずれか一項に記載の二本鎖核酸化合物。

【請求項 13】

A、C、G および U の各々を隣接する A、C、G または U に連結する共有結合が、ホスホジエステル結合である、請求項 3 ~ 12 のいずれか一項に記載の二本鎖核酸化合物。

【請求項 14】

センス鎖が、4、11、13 および 17 位 (5' > 3') における 2' - O - メチル糖修飾リボヌクレオチド、任意に、9 または 10 位 (5' > 3') における 2' 5' リボヌクレオチド、3' 末端に共有結合的に付着した C 3 P i または C 3 O H 非ヌクレオチド部分、および 5' 末端に共有結合的に付着した逆位無塩基キャッピング部分を含み、アンチセンス鎖が、

a) 1、8 および 15 位 (5' > 3') における 2' - O - メチル糖修飾リボヌクレオチド、6 または 7 位 (5' > 3') における 2' 5' リボヌクレオチド、3' 末端に共有結合的に付着した C 3 P i - C 3 O H 非ヌクレオチド部分、または、

b) 1、4、8、13 および 15 位 (5' > 3') における 2' - O - メチル糖修飾リボヌクレオチド、6 または 7 位 (5' > 3') における 2' 5' リボヌクレオチド、3' 末端に共有結合的に付着した C 3 P i - C 3 O H 非ヌクレオチド部分、または、

c) 1、4、8、11 および 15 位 (5' > 3') における 2' - O - メチル糖修飾リボヌクレオチド、6 位 (5' > 3') における 2' 5' リボヌクレオチド、3' 末端に共有

結合的に付着した C 3 P i - C 3 O H 非ヌクレオチド部分、または、
d) 1、3、8、12、13 および 15 位 (5' > 3') における 2' - O - メチル糖修飾リボヌクレオチド、6 位 (5' > 3') における 2' 5' リボヌクレオチド、3' 末端に共有結合的に付着した C 3 P i - C 3 O H 非ヌクレオチド部分を含む、請求項 3 に記載の二本鎖核酸化合物。

【請求項 15】

センス鎖が、4、11、13 および 17 位 (5' > 3') における 2' - O - メチル糖修飾リボヌクレオチド、9 位 (5' > 3') における 2' - 5' リボヌクレオチド、3' 末端に共有結合的に付着した C 3 O H 非ヌクレオチド部分、および 5' 末端に共有結合的に付着した逆位無塩基キャッピング部分を含み、アンチセンス鎖が、(5' > 3') 1、4、8、11 および 15 位 (5' > 3') における 2' - O - メチル糖修飾リボヌクレオチド、6 位 (5' > 3') における 2' 5' リボヌクレオチド、3' 末端に共有結合的に付着した C 3 P i - C 3 O H 非ヌクレオチド部分を含む、請求項 14 に記載の二本鎖核酸化合物。

【請求項 16】

請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の二本鎖核酸化合物を含む組成物。

【請求項 17】

線維症を処置するための、請求項 16 に記載の組成物。

【請求項 18】

線維症が、肝線維症、肝硬変、肺線維症、腎線維症、腹膜線維症、慢性肝損傷、心線維症、網膜線維症、眼窩線維症、涙腺線維化、骨髓線維症、腸管線維症、声帯粘膜線維症、喉頭線維症、腎性全身性線維症、先天性肝線維症および口腔粘膜下線維症からなる群から選択される、請求項 17 に記載の組成物。

【請求項 19】

線維症が、皮膚、腹膜、肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、骨髓、眼、腸管、声帯および / または脈管の線維症である、請求項 17 に記載の組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0011

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0011】

一部の好ましい態様において、本明細書に開示される核酸分子（例えば s i N A 分子）のアンチセンス鎖は、表 A - 19 に示すアンチセンス配列のいずれかに一致する配列を含む。一部の好ましい態様において、アンチセンス鎖およびセンス鎖は、表 A - 19 に示す配列のペアから選択される。いくつかの態様において、アンチセンス鎖およびセンス鎖は、S E R P I N H 1 __ 4、S E R P I N H 1 __ 12、S E R P I N H 1 __ 18、S E R P I N H 1 __ 30、S E R P I N H 1 __ 58 および S E R P I N H 1 __ 88 に記載の配列のペアから選択される。いくつかの態様において、アンチセンス鎖およびセンス鎖は、S E R P I N H 1 __ 4（配列番号 195 および 220）、S E R P I N H 1 __ 12（配列番号 196 および 221）、S E R P I N H 1 __ 30（配列番号 199 および 224）および S E R P I N H 1 __ 58（配列番号 208 および 233）に記載の配列のペアから選択される。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0036

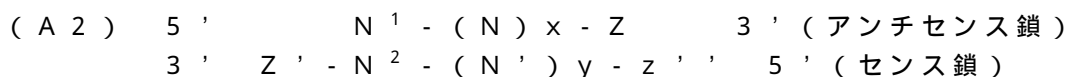
【補正方法】変更

【補正の内容】

【0036】

いくつかの態様において、二本鎖核酸分子は、アンチセンス鎖の 1 位 (5' 末端) に、

DNA部分または標的に対するミスマッチを含む。かかる構造は本明細書に記載されている。提供される1つの態様は、下記の構造：



を有する修飾核酸分子であり、

ここで、 N^2 、 N および N' の各々は、非修飾リボヌクレオチドまたは修飾リボヌクレオチドまたは非定型部分であり、

$(N)x$ および $(N')y$ の各々は、各々の連続する N または N' が隣接する N または N' に共有結合によって連結したオリゴヌクレオチドであり、

x と y の各々は、独立して17～39の間の整数であり、

$(N')y$ の配列は $(N)x$ の配列に相補性を有し、 $(N)x$ は、標的RNAの連続する配列に相補性を有し、

N^1 は $(N)x$ に共有結合的に結合しており、標的RNAに対してミスマッチであるか、または、標的RNAに対する相補的DNA部分であり、

N^1 は、天然または修飾ウリジン、デオキシリボウリジン、リボチミジン、デオキシリボチミジン、アデノシンまたはデオキシアデノシンからなる群から選択される部分であり、

z' は存在しても、または不在であってもよいが、存在する場合は $N^2 - (N')y$ の5'末端に共有結合的に付着したキャッピング部分であり、

Z および Z' の各々は、独立して、存在するか、または不在であるが、存在する場合は、独立して、それが存在する鎖の3'末端に共有結合的に付着した、1～5個の連続するヌクレオチド、連続する非ヌクレオチド部分またはその組合せである。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0060

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0060】

他の態様において、構造A1または構造A2の化合物は、糖残基が修飾された少なくとも1つのリボヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、化合物は糖残基の2'位に修飾を含む。いくつかの態様において、2'位における修飾は、アミノ、フルオロ、アルコキシまたはアルキル部分の存在を含む。一部の態様において、2'修飾はアルコキシ部分を含む。好ましい態様において、アルコキシ部分はメトキシ部分である（別名2'-O-メチル、2'-OMe、2'-OCH₃）。いくつかの態様において、核酸化合物は、アンチセンス鎖およびセンス鎖の一方または両方に、交互する2'-OMe糖修飾リボヌクレオチドを含む。他の態様において、化合物は2'-OMe糖修飾リボヌクレオチドをアンチセンス鎖、 $(N)x$ または $N^1 - (N)x$ のみに含む。一部の態様において、アンチセンス鎖の中央のリボヌクレオチド、例えば、19mer鎖の10位のリボヌクレオチドは、非修飾である。種々の態様において、核酸化合物は、少なくとも5個の交互する2'-OMe糖修飾および非修飾リボヌクレオチドを含む。さらなる態様において、構造A1または構造A2の化合物は、交互する位置に修飾リボヌクレオチドを含み、ここで、 $(N)x$ または $N^1 - (N)x$ の5'および3'末端の各々のリボヌクレオチドは、その糖残基が修飾されており、 $(N')y$ または $N^2 - (N')y$ の5'および3'末端の各々のリボヌクレオチドは、その糖残基が非修飾である。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0066

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0066】

構造A1および構造A2のいくつかの態様において、 $(N')y$ は、ミラーヌクレオチ

ド、2'5'ヌクレオチドおよびTNAから選択される少なくとも1個の非定型部分を含む。いくつかの態様において、非定型部分はミラーヌクレオチドである。種々の態様において、ミラーヌクレオチドは、L-リボヌクレオチド(L-RNA)およびL-デオキシリボヌクレオチド(L-DNA)から選択される。好ましい態様において、ミラーヌクレオチドはL-DNAである。一部の態様において、センス鎖は、非定型部分を9または10位(5'末端から)に含む。好ましい態様において、センス鎖は、非定型部分を9位(5'末端から)に含む。いくつかの態様において、センス鎖は長さが19ヌクレオチドであり、4、5または6個の連続する非定型部分を15位(5'末端から)に含む。いくつかの態様において、センス鎖は4個の連続する2'5'リボヌクレオチドを、15、16、17および18位に含む。いくつかの態様において、センス鎖は5個の連続する2'5'リボヌクレオチドを、15、16、17、18および19位に含む。種々の態様において、センス鎖はZ'をさらに含む。いくつかの態様において、Z'は、C3OH部分またはC3Pi部分を含む。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0077

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0077】

いくつかの態様において、アンチセンス鎖およびセンス鎖は、SERPINH1__2、SERPINH1__6、SERPINH1__11、SERPINH1__13、SERPINH1__45、SERPINH1__45a、SERPINH1__51、SERPIN1__51a、SERPINH1__52またはSERPINH1__86に記載の配列のペアから選択され、 $x = y = 18$ であり、 $N^1 - (N)x$ は、1、3、5、7、9、11、13、15、17、19位、または1、3、5、9、11、13、15、17、19位、または3、5、9、11、13、15、17位、または2、4、6、8、11、13、15、17、19位に2'OMe糖修飾リボヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、アンチセンス鎖およびセンス鎖は、SERPINH1__2、SERPINH1__6、SERPINH1__11、SERPINH1__13、SERPINH1__45、SERPINH1__45a、SERPINH1__51、SERPIN1__51a、SERPINH1__52またはSERPINH1__86に記載の配列のペアから選択され、 $x = y = 18$ であり、 $N^1 - (N)x$ は、11、13、15、17および19位(5'末端から)に2'OMe糖修飾リボヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、アンチセンス鎖およびセンス鎖は、SERPINH1__2、SERPINH1__6、SERPINH1__11、SERPINH1__13、SERPINH1__45、SERPINH1__45a、SERPINH1__51、SERPIN1__51a、SERPINH1__52またはSERPINH1__86に記載の配列のペアから選択され、 $x = y = 18$ であり、 $N^1 - (N)x$ は、1、3、5、7、9、11、13、15、17、19位、または、3、5、7、9、11、13、15、17、19位に2'OMe糖修飾リボヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、アンチセンス鎖およびセンス鎖は、SERPINH1__2、SERPINH1__6、SERPINH1__11、SERPINH1__13、SERPINH1__45、SERPINH1__45a、SERPINH1__51、SERPIN1__51a、SERPINH1__52またはSERPINH1__86に記載の配列のペアから選択され、 $x = y = 18$ であり、 $N^1 - (N)x$ は、2、4、6、8、11、13、15、17、19位に2'OMe糖修飾リボヌクレオチドを含む。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0080

【補正方法】変更

【補正の内容】

【 0 0 8 0 】

構造 A 2 のいくつかの態様において、 $(N')_y$ は、少なくとも 1 個の L - DNA 部分を含む。いくつかの態様において、 $x = y = 18$ であり、 $(N')_y$ は、1 ~ 16 および 18 位の非修飾リボヌクレオチドと、3' の最後から 2 番目の位置 (17 位) の 1 個の L - DNA とからなる。他の態様において、 $x = y = 18$ であり、 $(N')_y$ は、1 ~ 15 および 18 位の非修飾リボヌクレオチドと、3' の最後から 2 番目の位置の 2 個の連続する L - DNA (16 および 17 位) とからなる。種々の態様において、非定型部分は、隣接するヌクレオチドに 2' - 5' ヌクレオチド間リン酸結合で連結しているヌクレオチドである。種々の態様によると、 $(N')_y$ は、3' 末端における 2' - 5' ヌクレオチド間結合で連結された 2、3、4、5 または 6 個の連続するリボヌクレオチドを含む。一態様において、 $(N')_y$ の 3' 末端の 4 個の連続するヌクレオチドは、3 個の 2' - 5' ホスホジエステル結合で連結しており、ここで、2' - 5' ホスホジエステル結合を形成する 2' - 5' ヌクレオチドの 1 個または 2 個以上は、3' - O - メチル (3' OMe) 糖修飾をさらに含む。好ましくは、 $(N')_y$ の 3' 末端ヌクレオチドは、2' OMe 糖修飾を含む。一部の態様において、 $x = y = 18$ であり、 $(N')_y$ において、14、15、16、17 および 18 位における 2 個または 3 個以上の連続するヌクレオチドは、隣接するヌクレオチドに 2' - 5' ヌクレオチド間結合で連結したヌクレオチドを含む。種々の態様において、2' - 5' ヌクレオチド間結合を形成するヌクレオチドは、3' デオキシリボースヌクレオチドまたは 3' メトキシヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、 $x = y = 18$ であり、 $(N')_y$ は、14 ~ 15、15 ~ 16、16 ~ 17 および 17 ~ 18 位の間、または、15 ~ 16、16 ~ 17 および 17 ~ 18 位の間、または 16 ~ 17 および 17 ~ 18 位の間の 2' - 5' ヌクレオチド間結合により隣接するヌクレオチドに連結したヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、 $x = y = 18$ であり、 $(N')_y$ は、15 ~ 16、16 ~ 17 および 17 ~ 18 位の間の 2' - 5' ヌクレオチド間結合により隣接するヌクレオチドに連結したヌクレオチドを含む。他の態様において、 $(N')_y$ 中のピリミジンリボヌクレオチド (rU、rC) は、隣接するヌクレオチドに 2' - 5' ヌクレオチド間結合で連結するヌクレオチドに置換されている。

【 手 続 補 正 8 】

【 補 正 対 象 書 類 名 】 明 細 書

【 補 正 対 象 項 目 名 】 0 1 1 8

【 補 正 方 法 】 変 更

【 補 正 の 内 容 】

【 0 1 1 8 】

いくつかの態様において、アンチセンス鎖およびセンス鎖は、表 A - 19 に記載され、本明細書において S E R P I N H 1 __ 4 (配列番号 195 および 220) および S E R P I N H 1 __ 12 (配列番号 196 および 221) として同定されるオリゴヌクレオチドペアから選択される。

【 手 続 補 正 9 】

【 補 正 対 象 書 類 名 】 明 細 書

【 補 正 対 象 項 目 名 】 0 2 4 9

【 補 正 方 法 】 変 更

【 補 正 の 内 容 】

【 0 2 4 9 】

本明細書において提供される核酸分子 (例えば s i N A 分子) の一部の態様において、分子の少なくとも一端は、少なくとも 1 ヌクレオチドのオーバーハング (例えば、1 ~ 8 個のオーバーハングヌクレオチド) を有する。例えば、本明細書に開示される二本鎖核酸分子の一方または両方の鎖は、5' 末端または 3' 末端または両方にオーバーハングを有してもよい。オーバーハングは、核酸分子のセンス鎖およびアンチセンス鎖の一方または

両方に存在してもよい。オーバーハングの長さは、わずか1ヌクレオチドであっても、1～8ヌクレオチド程度またはそれを超えてもよく（例えば、1、2、3、4、5、6、7または8ヌクレオチド）、いくつかの好ましい態様において、オーバーハングは2、3、4、5、6、7または8ヌクレオチドであり、例えば、オーバーハングは2ヌクレオチドであってもよい。オーバーハングを形成する1個または2個以上のヌクレオチドは、1個または2個以上のデオキシリボヌクレオチド、1個または2個以上のリボヌクレオチド、天然もしくは非天然核酸塩基、または糖、塩基もしくはリン酸基が修飾された任意のヌクレオチド、例えば本明細書に開示されるものなどを含んでもよい。二本鎖核酸分子は、5'オーバーハングおよび3'オーバーハングの両方を有してもよい。5'末端および3'末端のオーバーハングは、異なる長さであってもよい。オーバーハングは少なくとも1個の核酸修飾を含んでもよく、それはデオキシリボヌクレオチドであってもよい。1個または2個以上のデオキシリボヌクレオチドが5'末端にあってもよい。核酸分子のそれぞれの反対鎖（counter-strand）の3'末端は、オーバーハングを有しなくてもよく、より好ましくはデオキシリボヌクレオチドオーバーハングを有しなくてもよい。1個または2個以上のデオキシリボヌクレオチドは、3'末端にあってもよい。dsRNAのそれぞれの反対鎖の5'末端は、オーバーハングを有しなくてもよく、より好ましくはデオキシリボヌクレオチドオーバーハングを有しなくてもよい。好ましくは、鎖の5'末端または3'末端のいずれかにおけるオーバーハングは、1～8個（例えば、約1、2、3、4、5、6、7または8個）の不對ヌクレオチドであってもよく、オーバーハングは2～3個の不對ヌクレオチドであり、より好ましくは2個の不對ヌクレオチドである。核酸分子は、約1～約20（例えば、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19または20）、好ましくは1～8（例えば、約1、2、3、4、5、6、7または8）ヌクレオチドのオーバーハング末端を有する二重鎖核酸分子、例えば約19個の塩基対と3'末端モノヌクレオチド、ジヌクレオチドまたはトリヌクレオチドオーバーハングとを有する約21ヌクレオチドの二重鎖を含んでもよい。本明細書に記載の核酸分子は、平滑末端を有する二重鎖核酸分子を含んでもよく、ここで、両端は平滑であるか、あるいは、末端の1つは平滑である。本明細書に開示される核酸分子は、1個または2個以上の平滑末端を含むことができ、すなわち、ここで、平滑末端はオーバーハングヌクレオチドを全く有しない。一態様において、平滑末端核酸分子は、核酸分子の各々の鎖に存在するヌクレオチドの数に等しい数の塩基対を有する。核酸分子は1個の平滑末端を含むことができ、例えば、ここで、アンチセンス鎖の5'末端とセンス鎖の3'末端はオーバーハングヌクレオチドを全く有しない。核酸分子は1個の平滑末端を含んでもよく、例えば、ここで、アンチセンス鎖の3'末端とセンス鎖の5'末端はオーバーハングヌクレオチドを全く有しない。核酸分子は2個の平滑末端を含んでもよく、例えば、ここで、アンチセンス鎖の5'末端とセンス鎖の3'末端、ならびに、アンチセンス鎖の3'末端とセンス鎖の5'末端はオーバーハングヌクレオチドを全く有しない。一部の好ましい態様において、核酸化合物は平滑末端を有する。平滑末端siRNA分子に存在する他のヌクレオチドは、例えば、RNA干渉を誘導するための核酸分子の活性を調節するための、ミスマッチ、バルジ、ループまたはゆらぎ塩基対を含んでもよい。

【手続補正10】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0268

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0268】

いくつかの二本鎖核酸分子において、2'-O-メチル修飾ヌクレオチドおよび非修飾ヌクレオチド、好ましくは2'-O-メチル修飾を有しないヌクレオチドが、両方の鎖に交互する様式で組み込まれ、その結果、2'-O-メチル修飾ヌクレオチドと、非修飾が、または、少なくとも2'-O-メチル修飾を含まないヌクレオチドが交互するパターンがもたらされる。一部の態様において、同じ2'-O-メチル修飾および非修飾の配列は

第2の鎖に存在し、他の態様において、交互する2'-O-メチル修飾ヌクレオチドはセンス鎖のみに存在し、アンチセンス鎖には存在せず、さらに他の態様において、交互する2'-O-メチル修飾ヌクレオチドは、アンチセンス鎖のみに存在し、センス鎖には存在しない。一部の態様において、2本の鎖の間に位相シフトが存在し、例えば、第1の鎖における2'-O-メチル修飾ヌクレオチドは第2の鎖の1個または2個以上の非修飾ヌクレオチドと塩基対を形成し、この逆もまた同様である。この特定の配置、すなわち、両方の鎖における1個または2個以上の2'-O-メチル修飾ヌクレオチドおよび非修飾ヌクレオチドの塩基対形成は、一部の態様において特に好ましい。一部の態様において、交互する2'-O-メチル修飾ヌクレオチドのパターンは、核酸分子全体、または二重鎖領域全体にわたって存在する。他の態様において、交互する2'-O-メチル修飾ヌクレオチドのパターンは、核酸の部分、または二重鎖領域の部分にのみ存在する。

【手続補正11】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0301

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0301】

ダイサー基質は、ダイサーによるそのプロセッシングを強化するある種の特性を有してもよい。ダイサー基質は、それがダイサーによってプロセッシングされ、活性な核酸分子を生成するのに十分な長さであり、以下の特性の1または2以上をさらに含んでもよい：(i) dsRNAは非対称であり、例えば、第1の鎖(アンチセンス鎖)に3'オーバーハングを有する、および、(ii) dsRNAは、ダイサーの結合の方向およびdsRNAの活性なsiRNAへのプロセッシングを誘導するための、第2の鎖(センス鎖)における修飾3'末端を有する。一部の態様において、ダイサー基質における最長の鎖は、24~30ヌクレオチドであってもよい。

【手続補正12】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0308

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0308】

ダイサー基質リン酸骨格修飾の例は、メチルホスホネートを含むホスホネート、ホスホロチオエートおよびホスホトリエステルの修飾、例えばアルキルホスホトリエステルなどを含む。ダイサー基質糖部分修飾の例は、2'-アルキルピリミジン、例えば2'-O-メチル、2'-フルオロ、アミノおよびデオキシ修飾などを含む(例えば、Amarzguioui et al., 2003参照)を含む。ダイサー基質塩基修飾の例は、無塩基糖、2'-O-アルキル修飾ピリミジン、4-チオウラシル、5-プロモウラシル、5-ヨードウラシルおよび5-(3-アミノアリル)-ウラシルなどを含む。ロックド核酸またはLNAもまた組み込むことができる。

【手続補正13】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0326

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0326】

本明細書に開示される核酸分子は、hsp47RNAに対してRNAi活性を有してもよく、ここで、核酸分子は、hsp47をコードする配列、例えばGenBankアクセッション番号NM_001235を有する配列、を有する任意のRNAに相補的な配列を含む。核酸分子は、hsp47RNAに対するRNAi活性を有してもよく、ここで、核酸分子は、変異体hsp47をコードする配列、例えば、線維症の維持および/または発症に関連するこ

とが当該技術分野において知られている他の変異 h s p 4 7 遺伝子、を有する R N A に相補的な配列を含む。本明細書に開示される核酸分子は、h s p 4 7 遺伝子のヌクレオチド配列と相互作用することができ、それによって、h s p 4 7 遺伝子発現のサイレンシングを誘導するヌクレオチド配列を含み、例えば、ここで、核酸分子は、染色体構造または h s p 4 7 遺伝子のメチル化パターンを調節し、h s p 4 7 遺伝子の転写を防止する細胞プロセスによって、h s p 4 7 遺伝子発現の調整を誘導する。

【手続補正 1 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 7 7

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 3 7 7】

液体粒子のエアゾールは、本明細書に開示される核酸分子を含んでもよく、任意の好適な手段、例えば噴霧器（例えば米国特許第4,501,729号参照）などにより製造することができる。噴霧器は、圧縮ガス、典型的には空気または酸素の、狭いベンチュリ開口を介した加速か、または超音波攪拌により、活性成分の溶液または懸濁液を治療的なエアゾールに変換する市販の装置である。噴霧器に用いられる好適な製剤は、活性成分を、製剤の 4 0 % w / w までの量、好ましくは 2 0 % w / w 未満の量で液体担体を含む。担体は、典型的には、水または希釈アルコール水溶液であり、好ましくは、例えば塩化ナトリウムまたは他の好適な塩の添加によって体液と等張にされる。任意の添加剤は、製剤が無菌で調製されない場合は防腐剤、例えば、ヒドロキシ安息香酸メチル、抗酸化剤、香味料、揮発油、緩衝剤および乳化剤および他の製剤界面活性剤を含む。活性組成物と界面活性剤とを含む固体粒子のエアゾールは、任意の固体粒子エアゾール発生器で同様に製造することができる。対象に固体粒子治療剤を投与するためのエアゾール発生器は、上記で説明したとおり、吸入可能な粒子を産生し、ヒトへの投与に好適な速度で、治療組成物の予め定められた計量された用量を含むエアゾールの量を生成する。固体粒子エアゾール発生器の 1 つの例示的な種類は、吸入器（insufflator）である。吸入法による投与のための好適な製剤は、吸入器で送達することができる、微細に粉碎された粉末を含む。吸入器内で、粉末、例えば本明細書に記載の処置を実行するのに有効なその計量された用量は、カプセルまたはカートリッジ（典型的にはゼラチンまたはプラスチック製）に含まれ、それは *in situ* で穿刺されるか開放され、粉末は、吸入により装置を介して吸い込まれる空気によって、または手動ポンプによって送達される。吸入器で使用する粉末は、単に活性成分のみか、または、活性成分、好適な粉末希釈剤、例えばラクトースおよび任意に界面活性剤を含む粉末混合物からなる。活性成分は、典型的には、製剤の 0 . 1 ~ 1 0 0 % w / w を含む。エアゾール発生器の第 2 の例示的な種類は、定量式インヘラー（inhaler）を含む。定量式インヘラーは、加圧式エアゾールディスペンサーであり、典型的には、液化噴射剤中の活性成分の懸濁液または溶液製剤を含む。使用の間、これらのデバイスは、計量された容量を送達し、活性成分を含む微粒子スプレーを生成するよう構成されたバルブを介して製剤を放出する。好適な噴射剤は、一部のクロロフルオロカーボン化合物、例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタンおよびこれらの混合物を含む。製剤は、1 種または 2 種以上の共溶媒、例えば、エチルアルコール、乳化剤および他の製剤界面活性剤、例えば、オレイン酸またはトリオレイン酸ソルビタン、抗酸化剤および好適な香料をさらに含むことができる。肺送達のための他の方法は、例えば、米国特許出願第20040037780号および米国特許第6,592,904号、第6,582,728号、第6,565,885号に記載されている。P C T 特許公開W02008/132723は、概してオリゴヌクレオチドの、そして特に s i R N A の呼吸器系へのエアゾール送達に関する。

【手続補正 1 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 4 0 3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0403】

式 (A) の N は、電子対または水素原子への結合を有してもよい。N が電子対を有する場合、繰返し単位は低 pH でカチオン性たり得る。

【手続補正16】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0405

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0405】

スキーム A において、R は上記と同じ意味を有する。PEI は、式 (B) の繰返し単位を含んでもよく、式中 x は約 1 ~ 約 100 の範囲の整数であり、y は約 1 ~ 約 100 の範囲の整数である。

【手続補正17】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0585

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0585】

本明細書に記載の化合物をこの動物モデルで試験し、結果は、これらの siRNA 化合物が肺線維症の処置および / または予防に有用であることを示す。