

【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9月7日(2006.9.7)

【公表番号】特表2006-505251(P2006-505251A)

【公表日】平成18年2月16日(2006.2.16)

【年通号数】公開・登録公報2006-007

【出願番号】特願2004-523550(P2004-523550)

【国際特許分類】

**C 1 2 N 15/09 (2006.01)**  
**A 6 1 K 9/12 (2006.01)**  
**A 6 1 K 31/7088 (2006.01)**  
**A 6 1 K 35/76 (2006.01)**  
**A 6 1 K 48/00 (2006.01)**  
**A 6 1 P 9/00 (2006.01)**  
**A 6 1 P 15/00 (2006.01)**  
**A 6 1 P 17/00 (2006.01)**  
**A 6 1 P 17/06 (2006.01)**  
**A 6 1 P 19/02 (2006.01)**  
**A 6 1 P 27/02 (2006.01)**  
**A 6 1 P 29/00 (2006.01)**  
**A 6 1 P 35/00 (2006.01)**  
**A 6 1 P 43/00 (2006.01)**  
**C 1 2 N 5/10 (2006.01)**  
**C 0 7 K 16/28 (2006.01)**  
**C 1 2 P 21/08 (2006.01)**

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A  
A 6 1 K 9/12  
A 6 1 K 31/7088  
A 6 1 K 35/76  
A 6 1 K 48/00  
A 6 1 P 9/00  
A 6 1 P 15/00  
A 6 1 P 17/00  
A 6 1 P 17/06  
A 6 1 P 19/02  
A 6 1 P 27/02  
A 6 1 P 29/00  
A 6 1 P 29/00 1 0 1  
A 6 1 P 35/00  
A 6 1 P 43/00 1 0 5  
C 1 2 N 5/00 B  
C 0 7 K 16/28  
C 1 2 P 21/08

【手続補正書】

【提出日】平成18年7月18日(2006.7.18)

【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】

センスRNA鎖及びアンチセンスRNA鎖を含む単離されたsiRNAであって、該センス及びアンチセンス鎖がRNA二本鎖を形成し、且つ該センス鎖が、ヒトVEGF mRNA、ヒトFlt-1 mRNA若しくはヒトFlk-1/KDR mRNA、又はこれらの選択的スプライス型、変異体若しくは同源体中の隣接する19~25ヌクレオチド標的配列と同じヌクレオチド配列を含む、当該単離されたsiRNA。

【請求項 2】

ヒトVEGF mRNAを、VEGF<sub>121</sub> mRNA (SEQ ID NO: 2); VEGF<sub>165</sub> mRNA (SEQ ID NO: 3); VEGF<sub>189</sub> mRNA (SEQ ID NO: 4)及びVEGF<sub>206</sub> mRNA (SEQ ID NO: 5)よりなる群から選択する、請求項 1に記載のsiRNA。

【請求項 3】

ヒトVEGF mRNA配列の同源体が、マウスVEGF mRNA (SEQ ID NO: 1)である、請求項 1に記載のsiRNA。

【請求項 4】

センスRNA鎖が、SEQ ID NO: 77を含み、且つアンチセンスRNA鎖が、SEQ ID NO: 78を含む、請求項 1に記載のsiRNA。

【請求項 5】

センスRNA鎖が、一つのRNA分子を含み、且つアンチセンスRNA鎖が、一つのRNA分子を含む、請求項 1に記載のsiRNA。

【請求項 6】

RNA二本鎖を形成するセンス及びアンチセンスRNA鎖が、単一鎖のヘアピンにより共有結合されている、請求項 1に記載のsiRNA。

【請求項 7】

siRNAが、非ヌクレオチド物質を更に含む、請求項 1に記載のsiRNA。

【請求項 8】

センス及びアンチセンスRNA鎖が、ヌクレアーゼ分解に対して安定化されている、請求項 1に記載のsiRNA。

【請求項 9】

3'オーバーハングを更に含む、請求項 1に記載のsiRNA。

【請求項 10】

3'オーバーハングが、1~6ヌクレオチドを含む、請求項 9に記載のsiRNA。

【請求項 11】

3'オーバーハングが、2ヌクレオチドを含む、請求項 9に記載のsiRNA。

【請求項 12】

センスRNA鎖が、第一の3'オーバーハングを含み且つアンチセンスRNA鎖が、第二の3'オーバーハングを含む、請求項 5に記載のsiRNA。

【請求項 13】

第一及び第二の3'オーバーハングが、別々に、1~6ヌクレオチドを含む、請求項 12に記載のsiRNA。

【請求項 14】

第一の3'オーバーハングが、2ヌクレオチドを含み且つ第二の3'オーバーハングが、2ヌクレオチドを含む、請求項 13に記載のsiRNA。

【請求項 15】

第一及び第二の3'オーバーハングを構成する2ヌクレオチドが、ジチミジル酸(TT)又はジウリジル酸(uu)である、請求項 14に記載のsiRNA。

【請求項 16】

3'オーバーハングが、ヌクレアーゼ分解に対して安定化されている、請求項9に記載の*siRNA*。

【請求項17】

請求項1に記載の*siRNA*を含む網膜色素上皮細胞。

【請求項18】

センスRNA鎖及びアンチセンスRNA鎖を含む*siRNA*を発現するための核酸配列を含む組換えプラスミドであって、該センス及びアンチセンスRNA鎖が、RNA二本鎖を形成し、且つセンスRNA鎖が、ヒトVEGF mRNA、ヒトFlt-1 mRNA若しくはヒトFlk-1/KDR mRNA、又はこれらの選択的スプライス型、変異体若しくは同源体中の隣接する19~25ヌクレオチドの標的配列と同じヌクレオチド配列を含む、当該組換えプラスミド。

【請求項19】

*siRNA*を発現するための核酸配列が、誘導性又は調節可能なプロモーターを含む、請求項18に記載の組換えプラスミド。

【請求項20】

*siRNA*を発現するための核酸配列が、ポリT停止配列に操作可能に結合されたセンスRNA鎖をコードする配列をヒトU6 RNAプロモーターの制御下に含み、ポリT停止配列に操作可能に結合されたアンチセンスRNA鎖をコードする配列をヒトU6 RNAプロモーターの制御下に含む、請求項18に記載の組換えプラスミド。

【請求項21】

プラスミドが、pAAV*siRNA*である、請求項20に記載の組換えプラスミド。

【請求項22】

センスRNA鎖とアンチセンスRNA鎖を含む*siRNA*の発現のための核酸配列を含む組換えウイルスベクターであって、該センス及びアンチセンスRNA鎖は、RNA二本鎖を形成し、センスRNA鎖は、ヒトVEGF mRNA、ヒトFlt-1 mRNA、若しくはヒトFlk-1/KDR mRNA、又はこれらの選択的スプライス型、変異体若しくは同源体中の隣接する19~25ヌクレオチドの標的配列と同じヌクレオチド配列を含む、上記の組換えウイルスベクター。

【請求項23】

*siRNA*の発現のための核酸配列が、誘導性又は調節可能なプロモーターを含む、請求項22に記載の組換えウイルスベクター。

【請求項24】

*siRNA*の発現のための核酸配列が、ポリT停止配列に操作可能に結合されたセンスRNA鎖をコードする配列をヒトU6 RNAプロモーターの制御下に含み、ポリT停止配列に操作可能に結合されたアンチセンスRNA鎖をコードする配列をヒトU6 RNAプロモーターの制御下に含む、請求項22に記載の組換えウイルスベクター。

【請求項25】

組換えウイルスベクターを、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、レンチウイルスベクター、レトロウイルスベクター、及びヘルペスウイルスベクターよりなる群から選択する、請求項22に記載の組換えウイルスベクター。

【請求項26】

組換えウイルスベクターが、水疱性口内炎ウイルス、狂犬病ウイルス、エボラウイルス、又はモコラウイルスからの表面タンパク質によりシュードタイプ分けすることができる、請求項22に記載の組換えウイルスベクター。

【請求項27】

組換えウイルスベクターが、アデノ随伴ウイルスベクターを含む、請求項25に記載の組換えウイルスベクター。

【請求項28】

*siRNA*及び製薬上許容しうるキャリアーを含む医薬組成物であって、該*siRNA*が、センスRNA鎖及びアンチセンスRNA鎖を含み、該センス及びアンチセンスRNA

鎖はRNA二本鎖を形成し、そしてセンスRNA鎖が、ヒトVEGF mRNA、ヒトFlt-1 mRNA、若しくはヒトFlk-1/KDR mRNA、又はこれらの選択的スプライス型、変異体若しくは同源体中の隣接する19~25ヌクレオチドの標的配列と同じヌクレオチド配列を含む、上記の医薬組成物。

【請求項29】

リポフェクチン、リポフェクタミン、セルフェクチン、ポリカチオン又はリポソームを更に含む、請求項28に記載の医薬組成物。

【請求項30】

請求項18に記載のプラスミド又は生理的に許容されるその塩、及び製薬上許容しうるキャリアーを含む医薬組成物。

【請求項31】

リポフェクチン、リポフェクタミン、セルフェクチン、ポリカチオン又はリポソームを更に含む、請求項30に記載の医薬組成物。

【請求項32】

請求項22に記載のウイルスペクター及び製薬上許容しうるキャリアーを含む医薬組成物。

【請求項33】

患者に投与して、ヒトVEGF mRNA、ヒトFlt-1 mRNA、若しくはヒトFlk-1/KDR mRNA、又はこれらの選択的スプライス型、変異体若しくは同源体の発現を阻止するために用いられる組成物であって、該組成物は、センスRNA鎖及びアンチセンスRNA鎖を含む有効量のsiRNAを含み、該センスRNA鎖とアンチセンスRNA鎖はRNA二本鎖を形成し、該センスRNA鎖は、ヒトVEGF mRNA、ヒトFlt-1 mRNA、若しくはヒトFlk-1/KDR mRNA、又はこれらの選択的スプライス型、変異体若しくは同源体中の隣接する19~25ヌクレオチドの標的配列と同じヌクレオチド配列を含み、それでヒトVEGF mRNA、ヒトFlt-1 mRNA、若しくはヒトFlk-1/KDR mRNA、又はこれらの選択的スプライス型、変異体若しくは同源体を分解することを特徴とする当該組成物。

【請求項34】

患者が、ヒトである、請求項33に記載の組成物。

【請求項35】

ヒトVEGF mRNA、ヒトFlt-1 mRNA、若しくはヒトFlk-1/KDR mRNA、又はこれらの選択的スプライス型、変異体若しくは同源体の発現が、患者の一方又は両方の眼において阻止される、請求項33に記載の組成物。

【請求項36】

ヒトVEGF mRNA、ヒトFlt-1 mRNA、若しくはヒトFlk-1/KDR mRNA、又はこれらの選択的スプライス型、変異体若しくは同源体の発現が、患者の網膜色素上皮細胞において阻止される、請求項33に記載の組成物。

【請求項37】

siRNAの有効量が、1~100 nMである、請求項33に記載の組成物。

【請求項38】

siRNAを、送達用試薬と共に投与する、請求項33に記載の組成物。

【請求項39】

送達用薬剤を、リポフェクチン、リポフェクタミン、セルフェクチン、ポリカチオン及びリポソームよりなる群から選択する、請求項38に記載の組成物。

【請求項40】

送達用薬剤が、リポソームである、請求項39に記載の組成物。

【請求項41】

リポソームが、該リポソームを血管形成部位又はその近くの細胞を標的とさせるリガンドを含む、請求項40に記載の組成物。

【請求項42】

リガンドが、腫瘍細胞又は血管内皮細胞上のレセプターに結合する、請求項 4 1 に記載の組成物。

【請求項 4 3】

リガンドが、モノクローナル抗体を含む、請求項 4 2 に記載の組成物。

【請求項 4 4】

リポソームが、オプソニン作用阻害成分で改変されている、請求項 4 0 に記載の組成物。

【請求項 4 5】

オプソニン作用阻害成分が、PEG、PPG又はこれらの誘導体を含む、請求項 4 4 に記載の組成物。

【請求項 4 6】

siRNAが、組換えプラスミドから発現される、請求項 3 3 に記載の組成物。

【請求項 4 7】

siRNAが、組換えウイルスベクターから発現される、請求項 3 3 に記載の組成物。

【請求項 4 8】

組換えウイルスベクターが、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、レンチウイルスベクター、レトロウイルスベクター又はヘルペスウイルスベクターを含む、請求項 4 7 に記載の組成物。

【請求項 4 9】

組換えウイルスベクターが、水疱性口内炎ウイルス、狂犬病ウイルス、エボラウイルス、又はモコラウイルスからの表面タンパク質によりシュードタイプ分けすることができる、請求項 4 8 に記載の組成物。

【請求項 5 0】

組換えウイルスベクターが、アデノ随伴ウイルスベクターを含む、請求項 4 7 に記載の組成物。

【請求項 5 1】

siRNAを、腸内投与経路により投与する、請求項 3 3 に記載の組成物。

【請求項 5 2】

腸内投与経路を、経口、直腸及び鼻内投与よりなる群から選択する、請求項 5 1 に記載の組成物。

【請求項 5 3】

siRNAを、非経口投与経路により投与する、請求項 3 3 に記載の組成物。

【請求項 5 4】

非経口投与経路を、血管内投与、組織周辺及び組織内投与、皮下注射又はデポジション、皮下点滴、眼内投与、及び新血管新生部位又はその近くへの直接適用よりなる群から選択する、請求項 5 3 に記載の組成物。

【請求項 5 5】

血管内投与を、静脈内ボラス注射、静脈内点滴、動脈内ボラス注射、動脈内点滴及び血管系へのカテーテル点滴注入法よりなる群から選択する、請求項 5 4 に記載の組成物。

【請求項 5 6】

組織周辺及び組織内注射が、腫瘍周辺への注射又は腫瘍内部への注射を含む、請求項 5 4 に記載の組成物。

【請求項 5 7】

眼内投与が、硝子体内、網膜内、網膜下、テント下、眼窩周囲及び眼窩後、経角膜又は経強膜投与を含む、請求項 5 4 に記載の組成物。

【請求項 5 8】

新血管新生部位又はその近くへの直接適用が、カテーテル、角膜ペレット、眼滴瓶、坐薬、多孔性物質を含むインプラント、非多孔性物質を含むインプラント、又はゼラチン状物質を含むインプラントによる適用、を含む、請求項 5 4 に記載の組成物。

## 【請求項 59】

新血管新生部位が、眼内にあり、新血管新生部位又はその近くへの直接適用が、眼内インプラントによる適用を含む、請求項 54 に記載の組成物。

## 【請求項 60】

眼内インプラントが、生物分解性である、請求項 59 に記載の組成物。

## 【請求項 61】

患者における血管形成を阻止するために用いられる組成物であって、該組成物は、センスRNA鎖及びアンチセンスRNA鎖を含むsiRNAの有効量を含み、該センス及びアンチセンスRNA鎖は、RNA二本鎖を形成し、該センスRNA鎖は、ヒトのVEGFmRNA、ヒトのFlt-1mRNA、ヒトのFlk-1/KDRmRNA、又はこれらの選択的スプライス型、変異体若しくは同源体中の19~25の隣接ヌクレオチドの標的配列と同一のヌクレオチド配列を含む当該組成物。

## 【請求項 62】

血管形成が、病原性である、請求項 61 に記載の組成物。

## 【請求項 63】

血管形成が、非病原性である、請求項 61 に記載の組成物。

## 【請求項 64】

非病原性血管形成が、脂肪組織の生成又はコレステロール生成と関連している、請求項 63 に記載の組成物。

## 【請求項 65】

非病原性血管形成が、子宮内膜の新血管新生を含む、請求項 63 に記載の組成物。

## 【請求項 66】

血管形成を、患者の一方又は両方の眼において阻止する、請求項 61 に記載の組成物。

## 【請求項 67】

血管形成を、患者の網膜色素上皮細胞において阻止する、請求項 61 に記載の組成物。

## 【請求項 68】

患者における血管形成性疾患を治療するために用いられる組成物であって、該組成物は、センスRNA鎖及びアンチセンスRNA鎖を含む有効量のsiRNAを含み、該センス及びアンチセンスRNA鎖はRNA二本鎖を形成し、該センスRNA鎖は、ヒトのVEGFmRNA、ヒトのFlt-1mRNA、ヒトのFlk-1/KDRmRNA、又はこれらの選択的スプライス型、変異体若しくは同源体中の19~25の隣接ヌクレオチドの標的配列と同一のヌクレオチド配列を含み、それで、血管形成性疾患と関連する血管形成が阻止される当該組成物。

## 【請求項 69】

血管形成性疾患が、癌と関連する腫瘍を含む、請求項 68 に記載の組成物。

## 【請求項 70】

癌を、乳癌、肺癌、頭頸部癌、脳癌、腹部癌、大腸癌、結腸直腸癌、食道癌、胃腸癌、神経膠腫、肝臓癌、舌癌、神経芽細胞腫、骨肉腫、卵巣癌、膵臓癌、前立腺癌、網膜芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、多発性骨髄腫、皮膚癌、リンパ腫及び血液癌よりなる群から選択する、請求項 69 に記載の組成物。

## 【請求項 71】

血管形成性疾患を、糖尿病性網膜症、加齢関連黄斑変性、及び炎症性疾患よりなる群から選択する、請求項 68 に記載の組成物。

## 【請求項 72】

炎症性疾患が、乾癬又はリウマチ様関節炎である、請求項 71 に記載の組成物。

## 【請求項 73】

血管形成性疾患が、加齢関連黄斑変性である、請求項 71 に記載の組成物。

## 【請求項 74】

siRNAを、血管形成性疾患を治療するための医薬と共に投与し、該医薬が、siRNAとは異なる、請求項 68 に記載の組成物。

## 【請求項 75】

血管形成性疾患が癌であり、医薬が化学療法剤を含む、請求項 74 に記載の組成物。

## 【請求項 76】

化学療法剤を、シスプラチン、カルボプラチン、シクロホスファミド、5 - フルオロウラシル、アドリアマイシン、ダウノルビシン及びタモキシフェンよりなる群から選択する、請求項 74 に記載の組成物。

## 【請求項 77】

s i R N A を、血管形成性疾患の治療のためにデザインされた他の治療法と組み合わせて患者に投与する、請求項 68 に記載の組成物。

## 【請求項 78】

血管形成性疾患が癌であり、s i R N A を、放射線療法、化学療法又は外科手術と組み合わせて投与する、請求項 77 に記載の組成物。

## 【請求項 79】

s i R N A が、変化した R N A を更に含む、請求項 1 に記載の s i R N A。