

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구  
국제사무국



(43) 국제공개일  
2011년 5월 12일 (12.05.2011)

PCT

(10) 국제공개번호  
WO 2011/056005 A3

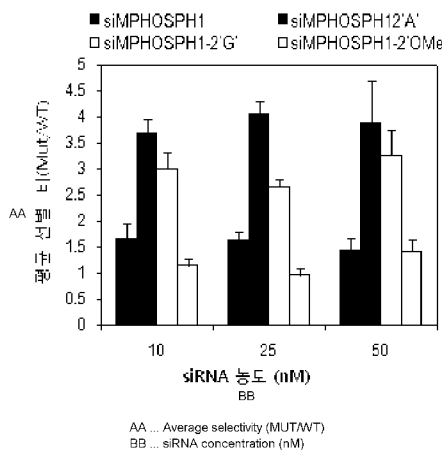
- (51) 국제특허분류: C12N 15/11 (2006.01) A61K 48/00 (2006.01)  
C07H 21/02 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2010/007771
- (22) 국제출원일: 2010년 11월 4일 (04.11.2010)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2009-0105808 2009년 11월 4일 (04.11.2009) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): 성균관대학교산학협력단 (SUNGKYUNKWAN UNIVERSITY FOUNDATION FOR CORPORATE COLLABORATION) [KR/KR]; 경기도 수원시 장안구 천전동 300, 440-746 Gyeonggi-do (KR).
- (72) 발명자: 곁
- (75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): 이동기 (LEE, Dong Ki) [KR/KR]; 서울특별시 서초구 서초4동 아크로비스타 C-2010, 137-776 Seoul (KR). 퓨자두아 (POOJA, Dua) [IN/KR]; 경기도 수원시 장안구 읍전동 210-32, 440-824 Gyeonggi-do (KR).
- (74) 대리인: 이처영 (LEE, Cheo Young); 서울특별시 강남구 역삼동 648-23 여삼빌딩 11층, 135-080 Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[다음 쪽 계속]

(54) Title: NOVEL SIRNA STRUCTURE FOR MINIMIZING OFF-TARGET EFFECTS CAUSED BY ANTISENSE STRANDS, AND USE THEREOF

(54) 발명의 명칭 : 안티센스 가닥에 의한 오프-타겟 효과를 최소화한 신규한 siRNA 구조 및 그 용도

[Fig. 11]



(57) Abstract: The present invention relates to a novel siRNA structure and to the use thereof, and more particularly, to a siRNA molecule and to a target gene silencing method using same, wherein the siRNA molecule is a double-stranded siRNA molecule comprising an antisense strand and a sense strand, and at least one or more single nucleotide bulges induced by the introduction of single nucleotides are present on the antisense strand of the siRNA, specifically at the second position of the 5' end. The present invention provides a siRNA molecule having a novel structure, which exhibits superior efficiency of target gene silencing, minimizes off-target effects caused by antisense strands, and thus has improved target selectivity. Therefore, the siRNA molecule of the present invention can be widely used in siRNA-based gene silencing technologies such as a gene therapy or the like in lieu of conventional siRNA molecules.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]



WO 2011/056005 A3



공개:

(88) 국제조사보고서 공개일:

2011년 10월 27일

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))
- 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

---

본 발명은 신규한 siRNA 구조 및 그 용도에 관한 것으로, 보다 상세하게는 안티센스 및 센스로 구성되는 이중가닥의 siRNA 분자로서 상기 siRNA의 안티센스 상에, 특히 5' 말단의 2 번째 위치에, 단일 뉴클레오티드의 도입에 의한 단일 뉴클레오티드 벌지(bulge)를 적어도 하나 이상 가지는 것을 특징으로 하는 siRNA 분자 및 이를 이용한 목적 유전자의 발현 억제 방법에 관한 것이다. 본 발명에 따른 siRNA 분자는 우수한 목적 유전자 발현 억제 효율을 보이면서도, 안티센스 가닥에 의한 오프-타겟 효과를 최소화한 타겟 선별성이 향상된 새로운 구조의 siRNA 분자를 제공함으로써, 종래의 siRNA 분자들을 대체하여 유전자 치료 등 siRNA를 기반으로 하는 유전자 발현 억제 기법에 널리 사용될 수 있다.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

**PCT/KR2010/007771**

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

**C12N 15/11(2006.01)i, C07H 21/02(2006.01)i, A61K 48/00(2006.01)i**

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12N 15/11; C07H 21/02; A61K 48/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

NCBI PubMed, eKOMPASS (KIPO internal) &amp; Keywords: single nucleotide bulge (bulge), siRNA, off-target effect, chemical modification

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	US 2005-0020521 A1 (RANA, T. M.) 27 January 2005 See abstract, figures 1-4 and claims 1-39.	1,6-14 2-5
A	DOENCH, J. G. et al.. "siRNAs can function as miRNAs." Genes Dev. 15 February 2003, Vol.17, pages 438-442. See abstract and figures 1-2.	1-14
A	SAXENA, S. et al.. "Small RNAs with Imperfect Match to Endogenous mRNA Repress Translation." The Journal of Biological Chemistry. 02 September 2003, Vol.278, No.45, pages 44312-44319. See abstract and figures 1-5.	1-14
A	OHRT, T. et al.. "Fluorescence correlation spectroscopy and fluorescence cross-correlation spectroscopy reveal the cytoplasmic origination of loaded nuclear RISC in vivo in human cells." Nucleic Acids Research. 08 October 2008, Vol.36, pages 6439-6449. See abstract and pages 6439-6445.	1-14



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 JULY 2011 (14.07.2011)

Date of mailing of the international search report

**14 JULY 2011 (14.07.2011)**

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office  
Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,  
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

**PCT/KR2010/007771**

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MARTIN, S. E. et al.. "Mismatched siRNAs downregulate mRNAs as a function of target site location." FEBS Letters. 05 June 2006, Vol. 580, pages 3694-3698. See the entire document.	1-14

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

**PCT/KR2010/007771****Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.: **15-18**  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Claims 15-18 relate to a method for suppressing expression or suppressing off-target effects of an intracellular target gene, comprising "a step of introducing or expressing siRNA in cells". However, the method includes a step of administering a gene to cells in human tissues as a technical constitution. Therefore, claims 15-18 pertains to a method for treatment of humans by surgery or therapy, and thus relate to a subject matter for which the International Searching Authority is not required to search under PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(v).
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.

**PCT/KR2010/007771**

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
US 2005-0020521 A1	27.01.2005	US 2005-020521 A1	27.01.2005

**A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))**  
  
**C12N 15/11(2006.01)i, C07H 21/02(2006.01)i, A61K 48/00(2006.01)i**

**B. 조사된 분야**  
조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)  
C12N 15/11; C07H 21/02; A61K 48/00

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))  
NCBI PubMed, eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 단일 뉴클레오타이드 벌지(bulge), siRAN, 오프-타겟 효과, 화학적 변형

**C. 관련 문헌**

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X A	US 2005-0020521 A1 (RANA, T. M.) 2005년 01월 27일 초록, 그림 1-4 및 청구항 1-39 참조.	1,6-14 2-5
A	DOENCH, J. G. 외 2명. 'siRNAs can function as miRNAs.' Genes Dev. 2003년 2월 15일, 제17권, 제438-442면. 초록 및 그림 1-2 참조.	1-14
A	SAXENA, S. 외 2명. 'Small RNAs with Imperfect Match to Endogenous mRNA Repress Translation.' The Journal of Biological Chemistry. 2003년 9월 2일, 제278권, 제45호, 제44312-44319면. 초록 및 그림 1-5 참조.	1-14
A	OHRT, T. 외 7명. 'Fluorescence correlation spectroscopy and fluorescence cross-correlation spectroscopy reveal the cytoplasmic origination of loaded nuclear RISC in vivo in human cells.' Nucleic Acids Research. 2008년 10월 8일, 제36권, 제6439-6449면. 초록 및 제6439-6445면 참조.	1-14

추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.       대응특허에 관한 벌지를 참조하십시오.

\* 인용된 문헌의 특별 카테고리:  
 "A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌  
 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌  
 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌  
 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌  
 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌  
 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 윌리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌  
 "X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.  
 "Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.  
 "&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일 2011년 07월 14일 (14.07.2011)	국제조사보고서 발송일 <b>2011년 07월 14일 (14.07.2011)</b>
--	--

ISA/KR의 명칭 및 우편주소  대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 청사로 189, 정부대전청사 팩스 번호 82-42-472-7140	심사관 노은주 전화번호 82-42-481-8368	
--	-----------------------------------	---

C (계속). 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	MARTIN, S. E. 외 1명. 'Mismatched siRNAs downregulate mRNAs as a function of target site location.' FEBS Letters. 2006년 6월 5일, 제580권, 제3694-3698면. 본문 전체 참조.	1-14

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1.  청구항: 제15-18항  
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉, 청구항 제15-18항은 ‘siRNA를 세포 내에 도입 또는 발현시키는 단계’를 포함하는 세포 내 목적 유전자의 발현 억제 또는 오프-타겟 효과의 억제방법에 관한 것입니다. 그러나 상기 방법은 사람의 조직 내에 있는 세포에 대하여 유전자를 투여하는 단계를 기술구성으로 포함하고 있으므로, 이는 수술 또는 치료에 의한 인체의 치료방법에 해당하여 국제조사의 대상이 아닙니다[PCT 조약 17(2)(a)(i) 및 규칙 39.1(iv)].
2.  청구항:  
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,
3.  청구항:  
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1.  출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.
2.  추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.
3.  출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.
4.  출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에  
관한 기재

- 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.
- 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된 기간 내에 납부되지 아니하였습니다.
- 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 2005-0020521 A1	2005.01.27	US 2005-020521 A1	2005.01.27